

**FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA**  
**UNIVERSIDADE DO PORTO**

**Artigo de Revisão Bibliográfica**

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

**EFICÁCIA DAS MEMBRANAS DE FIBRINA RICAS EM  
LEUCÓCITOS E PLAQUETAS NA GESTÃO DE COMPLICAÇÕES  
LOCAIS APÓS EXTRAÇÃO DE TERCEIROS MOLARES  
MANDIBULARES**

**Yulianna Danylyuk**

**Orientador**

Prof. Doutor João Manuel Lopes Alves Braga

**Coorientador**

Dr. Tiago Pinto Ribeiro

Porto, 2019

**Autora:**

Yulianna Danylyuk

Aluno do Mestrado Integrado em Medicina Dentária na Faculdade de Medicina  
Dentária da Universidade do Porto

dyulianna96@gmail.com

**Orientador**

Prof. Doutor João Manuel Lopes Alves Braga

**Coorientador**

Dr. Tiago Pinto Ribeiro

Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer ao meu orientador Prof. Doutor João Manuel Lopes Alves Braga e ao meu coorientador Dr. Tiago Pinto Ribeiro por terem aceite, sem hesitação, o meu pedido de orientação/coorientação.

## ÍNDICE

|                                                                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| INTRODUÇÃO.....                                                                                                                                                | 1  |
| MATERIAIS E MÉTODOS.....                                                                                                                                       | 3  |
| A BIOLOGIA DA CICATRIZAÇÃO .....                                                                                                                               | 5  |
| 1. Fase 1 – Coagulação e hemóstase.....                                                                                                                        | 5  |
| 2. Fase 2 - Inflamação.....                                                                                                                                    | 6  |
| 3. Fase 3 – Proliferação .....                                                                                                                                 | 7  |
| 4. Fase 4 – Modelação e remodelação óssea .....                                                                                                                | 8  |
| CLASSIFICAÇÃO DOS CONCENTRADOS PLAQUETÁRIOS .....                                                                                                              | 9  |
| FIBRINA RICA EM LEUCÓCITOS E PLAQUETAS (L-PRF) .....                                                                                                           | 10 |
| 1. Propriedades .....                                                                                                                                          | 11 |
| 1.1 Propriedade hemostática .....                                                                                                                              | 11 |
| 1.2 Propriedade anti-inflamatória.....                                                                                                                         | 11 |
| 1.3 Propriedade angiogénica .....                                                                                                                              | 11 |
| 1.4 Regeneração óssea guiada (ROG).....                                                                                                                        | 12 |
| 1.5 Libertação de citocinas e fatores de crescimento .....                                                                                                     | 13 |
| 1.6 Atividade anti-infeciosa .....                                                                                                                             | 13 |
| 2. Comparação do L-PRF com outros concentrados plaquetários.....                                                                                               | 14 |
| 2.1 L-PRF vs Plasma rico em plaquetas (PRP) .....                                                                                                              | 14 |
| 2.2 L-PRF vs Fibrina rica em plaquetas avançada (A-PRF) .....                                                                                                  | 14 |
| 2.3 L-PRF vs Fibrina rica em plaquetas injetável (i-PRF).....                                                                                                  | 15 |
| 3. Protocolo.....                                                                                                                                              | 16 |
| 3.1 Preparação do coágulo de L-PRF.....                                                                                                                        | 16 |
| 3.2 Preservação do rebordo alveolar .....                                                                                                                      | 18 |
| EFICÁCIA DAS MEMBRANAS DE FIBRINA RICAS EM LEUCÓCITOS E<br>PLAQUETAS NA GESTÃO DE COMPLICAÇÕES LOCAIS APÓS EXTRAÇÃO DE<br>TERCEIROS MOLARES MANDIBULARES ..... | 20 |
| 1. Alveolite .....                                                                                                                                             | 20 |
| 2. Dor pós-operatória e consumo de analgésicos .....                                                                                                           | 20 |
| 3. Edema .....                                                                                                                                                 | 21 |
| 4. Regeneração óssea.....                                                                                                                                      | 21 |
| 5. Sondagem periodontal .....                                                                                                                                  | 22 |
| 6. Trismo.....                                                                                                                                                 | 22 |
| 7. Cicatrização dos tecidos moles.....                                                                                                                         | 23 |
| DISCUSSÃO .....                                                                                                                                                | 24 |
| CONCLUSÃO.....                                                                                                                                                 | 26 |

|                                       |    |
|---------------------------------------|----|
| TABELAS .....                         | 27 |
| ANEXOS .....                          | 40 |
| Anexo 1 – Declaração de autoria ..... | 41 |
| Anexo 2 – Parecer do orientador ..... | 42 |

## ÍNDICE DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela I – Comparação de PRP versus L-PRF .....                                                                                                                                                   | 28 |
| Tabela II – Comparação dos protocolos de obtenção de coágulos de L-PRF.....                                                                                                                       | 29 |
| Tabela III – Características gerais dos estudos incluídos .....                                                                                                                                   | 31 |
| Tabela IV – Comparação das angulações dos molares incluídos, realização ou não de osteotomia, intervalo entre cirurgias nos casos de estudos “split-mouth” e medicação nos estudos incluídos..... | 32 |
| Tabela V – Comparação das variáveis avaliadas, os métodos, o momento de registo de valores, e os resultados dos estudos incluídos .....                                                           | 35 |

## LISTA DE ABREVIACÕES

|              |                                                                                     |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>3M</b>    | Terceiro molar                                                                      |
| <b>ERC</b>   | Estudos clínicos randomizados controlados                                           |
| <b>L-PRF</b> | <i>Leucocyte and Platelet-rich Fibrin</i> /Fibrina rica em plaquetas e leucócitos   |
| <b>CS</b>    | Coágulo sanguíneo                                                                   |
| <b>FGF</b>   | <i>Fibroblast growth factor</i> /Fator de crescimento de fibroblastos               |
| <b>VEGF</b>  | <i>Vascular endothelial growth factor</i> /Fator de crescimento vascular endotelial |
| <b>PDGF</b>  | <i>Platelet-derived growth factor</i> /Fator de crescimento derivado de plaquetas   |
| <b>TGF</b>   | <i>Transforming growth factor</i> /Factor de crescimento transformador              |
| <b>EGF</b>   | <i>Epidermal growth factor</i> /Fator de crescimento epidermal                      |
| <b>IGF</b>   | <i>Insulin-like growth factor</i> /Fatores de crescimento semelhantes a insulina    |
| <b>TG</b>    | Tecido de granulação                                                                |
| <b>WB</b>    | <i>Woven bone</i>                                                                   |
| <b>MP</b>    | Matriz provisória                                                                   |
| <b>IL</b>    | Interleucina                                                                        |
| <b>Ig</b>    | Imunoglobulina                                                                      |
| <b>ROG</b>   | Regeneração óssea guiada                                                            |
| <b>PRP</b>   | <i>Platelet-rich plasma</i> /Plasma rico em plaquetas                               |
| <b>A-PRF</b> | <i>Advanced PRF</i> /PRF-Avançado                                                   |
| <b>PRF</b>   | <i>Platelet-rich fibrin</i> /Fibrina rica em plaquetas                              |

## **ABSTRACT**

Mandibular third molar surgery is one of the most common procedures in the dental practice. The surgery is often associated with different types of complications namely osteomyelitis, pain, swelling, trismus and bone loss, that affect not only the wound healing but also patient's quality of life. For this, the regenerative medicine has been pushed to develop accessible, simple and effective bioactive substances capable of regulating the inflammation and augmenting the speed of healing.

Leucocyte and platelet-rich fibrin (L-PRF) is a second generation of platelet concentrates that doesn't involve anticoagulants nor gelifying agents in its production. It's hemostatic, anti-inflammatory, angiogenic and anti-infectious properties have led to its application in post-extraction sockets. The aim of this review was to compile the existing information regarding the efficacy of leucocyte and platelet-rich fibrin on the management of local complications namely osteomyelitis, post-operative pain, swelling and trismus after lower third molar extraction. The rate of bone healing, the distal probing depth of the lower second molar and tissue healing were also evaluated. After a thorough search in the Pubmed database, a total of fourteen randomized controlled studies were included in this review.

We can conclude that the existing studies strongly suggest that L-PRF has a positive effect on diminishing the occurrence of osteomyelitis and post-operative pain. L-PRF may positively affect swelling, trismus and tissue healing but it doesn't seem to affect periodontal probing and bone healing.

A standardized protocol is needed in order to develop well-designed randomized controlled trials capable of bringing the scientific community to evidence based conclusions.

## RESUMO

A exodontia dos terceiros molares mandibulares é dos procedimentos cirúrgicos mais comuns na prática clínica de um médico dentista. Esta cirurgia está frequentemente associada a diferentes tipos de complicações nomeadamente alveolite, dor, edema, trismo e perda óssea que poderão comprometer não só a cicatrização da ferida como também a qualidade de vida do paciente. Por isto, a medicina regenerativa foi impulsionada a desenvolver substâncias bioativas acessíveis, simples e eficazes capazes de regular a inflamação e acelerar a velocidade de cicatrização.

As membranas de fibrina ricas em plaquetas e leucócitos constituem a segunda geração de concentrados plaquetários por não envolverem agentes anticoagulantes nem gelificantes na sua produção. As suas propriedades hemostáticas, anti-inflamatórias, angiogénicas e anti-infecciosas conduziram à sua aplicação em alvéolos pós-extração.

O objetivo desta monografia foi reunir a informação existente até à data sobre a eficácia destas membranas na gestão de complicações locais incluindo alveolite, dor pós-operatória, edema e trismos após exodontia de terceiros molares mandibulares. A cicatrização dos tecidos moles, profundidade de sondagem na face distal do segundo molar e regeneração óssea foram igualmente incluídos na avaliação. Depois de uma minuciosa pesquisa na base de dados da Pubmed, um total de treze estudos randomizados e controlados foram incluídos na análise.

Foi possível concluir que as membranas ricas em plaquetas e leucócitos promovem uma diminuição da incidência de alveolite e dor pós-operatória. Parecem ajudar na diminuição de edema, trismos e cicatrização dos tecidos moles. No entanto, não parecem influenciar a regeneração óssea nem a profundidade de sondagem na superfície distal do segundo molar.

É imperativo criar um protocolo standard não só para obtenção das membranas ricas em plaquetas e leucócitos, mas também para a sua aplicação em alvéolos após extração para que seja possível desenvolver estudos que, após uma análise comparativa, permitam chegar a conclusões.

## **PALAVRAS-CHAVE**

Platelet-rich fibrin, third molar, wisdom tooth, regenerative medicine, wound healing

## INTRODUÇÃO

De acordo com a meta-análise de K. Carter e S. Worthington feita em 2015, a prevalência mundial de inclusão do terceiro molar (3M) é cerca de 24,40%, sendo que a mandíbula encontra-se afetada, em média, mais 57,58% em comparação com a maxila.(1)

Está bem documentado que a inclusão do 3M mandibular está frequentemente associada a diversas complicações, sendo algumas mais frequentes que outras - pericoronarite, cárie dentária, quistos, tumores, periodontite do 2º molar e apinhamento tardio dos incisivos inferiores.(2-8) Assim, quer seja para fins de tratamento dos sintomas, por razões profiláticas ou ortodônticas, esses dentes são geralmente removidos levando a que a extração de 3Ms mandibulares seja um dos procedimentos mais frequentes em cirurgia oral.(9)

A remoção cirúrgica de um dente inicia uma complexa cascata de eventos de cicatrização envolvendo os tecidos circundantes (osso alveolar, ligamento periodontal e mucosa gengival)(10) que requerem organização celular, sinalização química (p.e. fatores de crescimento) e uma matriz extracelular.(11) O processo de cicatrização e regeneração ainda não está totalmente esclarecido, mas sabemos que um dos mais importantes agentes celulares são as plaquetas, devido à sua capacidade de libertar citocinas e fatores de crescimento que ativam e atraem células-chave, como neutrófilos, macrófagos e células endoteliais. e fibroblastos.(12-14)

Sabe-se também que o procedimento cirúrgico pode ser seguido por várias complicações, nomeadamente hemorragia, edema, dor, trismo, alveolite, lesão do nervo alveolar inferior, fraturas ósseas e reabsorções ósseas verticais/horizontais que podem comprometer não só a cicatrização da ferida, mas também a qualidade de vida dos pacientes.(15-20) A probabilidade de um paciente manifestar estas complicações depende, por um lado, de fatores relacionados com o paciente (idade, sexo, história médica, uso de contraceptivos orais, presença de pericoronarite, higiene oral deficiente, tabagismo, tipo de inclusão, relação do terceiro molar com o nervo alveolar inferior) e por outro lado, também depende da habilidade do cirurgião e escolhas cirúrgicas (tempo cirúrgico, técnica cirúrgica, experiência do cirurgião, uso de antibióticos, uso de anti-sépticos tópicos, uso de medicações intra-alveolares)(16).

Com o objetivo de diminuir a taxa de ocorrência dessas complicações, a pesquisa na área de medicina regenerativa evoluiu no sentido de desenvolver

substâncias bioativas acessíveis, simples e eficazes, capazes de regular a inflamação e aumentar a velocidade de cicatrização. Com esse propósito, em 2001, Choukroun e sua equipa desenvolveram a Fibrina rica em Leucócitos e Plaquetas (L-PRF), um concentrado plaquetário autólogo que resulta da centrifugação do sangue. Diferencia-se dos seus antecessores por não envolver anticoagulantes nem agentes gelificantes como a trombina bovina na sua produção e, por isto, também é identificado por muitos como o concentrado plaquetário de segunda geração.(21-23) O coágulo de L-PRF consiste numa densa matriz de fibrina com uma arquitetura tridimensional complexa, na qual a maioria das plaquetas e leucócitos, bem como vários fatores de crescimento do sangue colhido são concentrados.(14, 24) As características do novo concentrado levaram à sua aplicação como aditivo cirúrgico nos alvéolos pós-extração, a fim de melhor controlar as complicações pós-operatórias.(25-27)

Esta revisão bibliográfica é uma tentativa de compilar as informações disponíveis até ao momento sobre a eficácia das membranas L-PRF no controlo das complicações locais após extração de 3M mandibulares.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Para realizar esta monografia, foi desenvolvida uma pesquisa sistematizada, utilizando informações de diferentes bases de dados, incluindo MEDLINE (Pubmed) e Google Scholar. Para a pesquisa, foram usados os seguintes termos MESH - “platelet-rich fibrin”, “third molar”, “wisdom tooth”, e os seguintes termos livres – “blood platelet”, “fibrin”, “growth factors”, “leukocytes”, “platelet-rich fibrin (PRF)”, “leucocyte and platelet rich fibrin (L-PRF)”, “regenerative medicine”, “wound healing”. A pesquisa foi limitada ao idioma inglês.

Para a redação desta revisão, excluindo o capítulo “Eficácia das membranas de fibrina ricas em leucócitos e plaquetas na gestão de complicações locais após extração de terceiros molares mandibulares”, foram incluídas meta-análises, revisões sistemáticas, ensaios clínicos randomizados controlados, ensaios clínicos controlados e ensaios clínicos (incluindo in vitro). Não foi estabelecido um limite temporal de publicação de artigos.

Especificamente para o capítulo “Eficácia das membranas de fibrina ricas em leucócitos e plaquetas na gestão de complicações locais após extração de terceiros molares mandibulares”, apenas foram incluídos ensaios clínicos randomizados controlados (ERC) e ensaios clínicos controlados publicados no período entre 01/01/2001 e 06/05/2019. A pesquisa foi feita na base de dados Pubmed com as palavras-chave “platelet-rich fibrin” AND “third molar”, resultando num total de 38 artigos. Cada artigo foi analisado individualmente pela seguinte ordem: primeiramente analisaram-se os títulos, se se enquadravam no tema do estudo passava-se à leitura do resumo e, se aprovado, todo o artigo seria estudado. No total foram encontrados vinte e dois artigos com potencial de inclusão. Após a leitura completa dos vinte e dois artigos, oito foram excluídos por motivos específicos: Singh et al. (28) foi excluído por não ser um estudo randomizado, descrição incompleta do procedimento cirúrgico e relato incoerente dos resultados; Ruga et al.(29) não apresentaram a análise dos dados; Hoaglin et al.(30) era um estudo retrospectivo; Varghese et al.(31) mostraram uma inconsistência no número da amostra (na descrição dos métodos indicam 30 pacientes, nas tabelas de resultados 90); Gülsen et al.(32) usaram um agente de coagulação e erroneamente identificaram o material como L-PRF; Jeyaraj et al(33) indicaram 30.000 rpm no protocolo de obtenção do L-PRF; Revathy et al(34) interpretação incorreta dos resultados (classificou um resultado  $p = 0,061$  como estatisticamente significativo) e,

por fim, Dar et al(35) devido a incoerência nos resultados. Um total de quatorze ERCs foram incluídos neste estudo.

## **A BIOLOGIA DA CICATRIZAÇÃO**

A compreensão do processo de cicatrização do alvéolo após a extração do dente é a base para o desenvolvimento de biomateriais regeneradores. A cicatrização do alvéolo é particularmente complexa, pois envolve não só a cicatrização de uma lesão aguda na mucosa, mas também a cicatrização do osso subjacente. Enquanto que a cicatrização dos tecidos moles (12, 36-39) e duros (40-42) está bem descrita na literatura, não há muitos estudos que descrevam a cicatrização do alvéolo após extração como um todo. No entanto, foram feitos alguns estudos em animais (43-50) que demonstraram que, apesar da linha temporal ser diferente, havia uma sequência comum de eventos de cicatrização entre os diferentes modelos de animais. O ponto negativo desses estudos é que a maioria deles remonta ao século XX pelo que naturalmente têm limitações. Contudo, a cicatrização de alvéolos também foi investigada em humanos.(51-57) Os resultados destes estudos quando comparados com os estudos feitos em animais, permitem concluir que as fases são iguais mas, conforme previsto, a cronologia muda. Em conclusão, novos estudos são necessários para atualizar e descrever de forma mais detalhada os mecanismos subjacentes da cicatrização do alvéolo pós-extração.

### **1. Fase 1 – Coagulação e hemóstase**

A extração de um dente causa lesão microvascular que leva a extravasamento de sangue para o alvéolo.(10, 38, 52) O dano nos vasos sanguíneos induz uma vasoconstrição reflexa por alguns minutos até que a hipóxia e acidose induzem o relaxamento passivo, reiniciando a hemorragia. Simultaneamente, à medida que o sangue penetra no local da lesão, as plaquetas entram em contato com o colagénio exposto e outras estruturas da matriz extracelular. Este contacto favorece tanto a libertação de fatores de coagulação como a agregação das plaquetas, formando-se um coágulo sanguíneo (CS)(38) que preenche o alvéolo até a mucosa marginal.(10) Além de ser uma tampão mecânico, essa estrutura também permitirá a migração de células nas fases subsequentes.(38)

Durante este processo inicia-se também a angiogénese. O ambiente de hipóxia induz por parte dos tecidos e das células livres circundantes a secreção de moléculas que promovem a proliferação e crescimento de células endoteliais.(38) Alguns exemplos

destas moléculas (fatores angiogénicos) são fator de crescimento de fibroblastos (FGF), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento transformador alfa (TGF- $\alpha$ ) e beta (TGF- $\beta$ ), sendo o FGF e o VEGF os mais importantes na regulação do processo.(38, 58)

Além disso, momentos após a lesão, os fibroblastos e miofibroblastos do tecido circundante são estimulados a proliferar, mas não são vistos no local da ferida até dias depois.(38)

É bem conhecido que as plaquetas desempenham um papel fundamental na cicatrização de feridas. Além de seu papel na coagulação, eles também são responsáveis pela produção de substâncias quimiotáticas como PDGF, TGF- $\beta$ , fator de crescimento epidérmico (EGF) e fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGF) cruciais para a ativação e atração de neutrófilos e, posteriormente, macrófagos. células endoteliais e fibroblastos.(38)

## **2. Fase 2 - Inflamação**

O objetivo da segunda fase é criar uma barreira imunológica contra os micro-organismos invasores. É dividida em dois momentos distintos, uma fase inflamatória inicial e uma fase inflamatória tardia.

### **2.1 Fase inflamatória inicial**

Durante a fase tardia da coagulação inicia-se a fase inflamatória inicial. A secreção de componentes como TGF- $\beta$ , componentes do complemento como C3a e C5a, péptidos de formilmetionina produzidos por bactérias e produtos de plaquetas, começam a atrair neutrófilos. Uma vez no local da lesão, os neutrófilos fagocitam não só o tecido danificado como também as bactérias, uma vez que lesões com desequilíbrio bacteriano não cicatrizam.(38) Os neutrófilos também carregam um vasto arsenal de mediadores solúveis (p.e., proteases e polipéptidos antimicrobianos) que são essenciais para o recrutamento eficiente de outros neutrófilos e para a mediação da reparação fisiológica do tecido epitelial.(11) Após terminarem a sua atividade, estas células devem ser eliminadas. Os remanescentes celulares e corpos apoptóticos são então fagocitados pelos macrófagos permitindo o início da próxima etapa.(38)

## 2.2 Fase inflamatória tardia

Como parte da fase inflamatória tardia, os monócitos sanguíneos, atraídos por uma panóplia de agentes (fatores de coagulação, componentes do complemento, PDGF, TGF- $\beta$ , leucotrieno B<sub>4</sub>, fator plaquetário IV, elastina e produtos de degradação do colagénio), migram para a ferida e sofrem alterações fenotípicas que os diferenciam em macrófagos teciduais cujo ação não se restringe apenas a fagocitose, mas também a produção de potentes fatores de crescimento teciduais (TGF- $\beta$ , TGF- $\alpha$ , fator de crescimento epidérmico de ligação à heparina, FGF, collagenase) importantes na ativação de queratinócitos, fibroblastos e células endoteliais. (38)

O último grupo de células a apresentar-se no local da ferida durante a fase inflamatória tardia são os linfócitos. Eles são atraídos pela interleucina-1 (IL-1), componentes do complemento e produtos de degradação da imunoglobulina G (IgG).(38)

## 3. Fase 3 – Proliferação

Durante esta próxima fase há formação do tecido de granulação (TG), proliferação de fibroblastos, deposição de matriz extracelular provisória (MP) e formação de *woven bone* (WB).(59)

A partir da porção marginal do alvéolo, várias áreas do CS são progressivamente substituídas por TG(10, 53) composto por células inflamatórias, brotos vasculares e fibroblastos imaturos.(59) Na primeira semana após a remoção do dente, o CS que preenchia o alvéolo é quase totalmente remodelado e substituído por TG.(10, 59)

Os fibroblastos aparecem na ferida depois da libertação de fatores como TGF e PDGF por parte das células inflamatórias e plaquetas. Para que se possam acumular no local da ferida, eles precisam de sofrer uma modulação fenotípica. Uma vez no local, os fibroblastos proliferam e produzem as proteínas da matriz (ácido hialurónico, fibronectina, proteoglicanos e pro-colagénio) que formarão a MP.(38)

A MP forma-se em direção ao centro da cavidade alveolar, substituindo o ligamento periodontal, TG, assim como os resíduos do CS.(51, 52) À medida que a MP se forma, esta vai sendo penetrada por vários vasos e osteoblastos. Aproximadamente uma semana após a lesão, a deposição de tecido mineralizado começa ao redor dos vasos sanguíneos. Eventualmente, as projeções envolvem todo o vaso dando origem ao

osteão primário. O WB é um tipo de osso provisório sem qualquer capacidade de suporte de carga e, portanto, precisa ser substituído por osso maduro.(59) A formação deste osso provisório restringe progressivamente a presença da MP à porção central do alvéolo. A taxa de aposição mineral num alvéolo tende a diminuir da região lingual para a vestibular. (10)

A porção marginal do alvéolo é progressivamente coberta por tecido conjuntivo fibroso bem organizado, parcialmente revestido por células epiteliais.(10) Os fibroblastos começam a mudar para a sua configuração de miofibroblastos, responsável pela aproximação dos bordos da ferida.(38)

#### **4. Fase 4 – Modelação e remodelação óssea**

Esta é a última fase do processo cicatrização do alvéolo. A modelação óssea é definida como uma mudança quantitativa (reabsorção óssea que conduz a uma alteração dimensional), enquanto que a remodelação óssea é definida como uma mudança qualitativa (substituição de WB por osso maduro).(59) Enquanto que a modelação parece ser um processo relativamente rápido (dois terços ocorrem nos primeiros 3 meses de cicatrização), a remodelação do tecido duro recém-formado parece ser lenta e varia entre indivíduos.(57, 60)

Poucas semanas após a remoção do dente, os osteoclastos podem ser encontrados em torno da crista das paredes vestibular e lingual e nas porções externa e interna (*bundle bone*) do alvéolo. Dado que o osso lingual é geralmente mais largo que o vestibular, a modelação óssea leva a uma maior perda óssea vertical na porção vestibular.(59)

O WB das porções apicais do alvéolo é então substituído por osso lamelar e medula óssea. Concomitantemente, as fibras de colagénio da mucosa inserem-se no novo osso e uma estrutura semelhante ao perióstio é criada. Nesse estágio da cicatrização, toda a região do alvéolo apical ao osso marginal é caracterizada por um alto conteúdo de medula óssea e trabéculas bem organizadas de osso lamelar.(10)

Por fim, prevê-se que a fusão epitelial da lesão ocorra em torno do 24º ao 35º dia.(53)

## CLASSIFICAÇÃO DOS CONCENTRADOS PLAQUETÁRIOS

Desde a introdução dos concentrados plaquetários no campo da cirurgia maxilofacial por Marx et al. em 1998(61), muitas outras preparações surgiram e com elas a necessidade de uma classificação lógica.

Em 2009, Dohan Ehrenfest et al.(22) propuseram a classificação de 4 famílias principais seguindo dois parâmetros: presença ou ausência de conteúdo celular e a arquitetura da fibrina.

Por um lado, temos os concentrados plaquetários em suspensões líquidas (antes da ativação) denominadas plasma rico em plaquetas (PRP): *Pure platelet-rich plasma* (P-PRP), como o separador de células PRP, Vivostat PRF ou PRGF de Anitua; *Leucocyte-and platelet-rich plasma* (L-PRP), como Curasan, Regen, Plateltex, SmartPreP, PCCS, Magellan, Anjo ou GPS PRP.

Por outro lado, temos concentrados plaquetários sólidos, com uma forte arquitetura de fibrina, denominados fibrina rica em plaquetas (PRF): *Pure platelet-rich fibrin* (P-PRF), como Fibrinet; e *Leucocyte- and platelet-rich fibrin* (L-PRF), tal como o PRF de Choukroun.

O P-PRP e o L-PRP referem-se à sua inerente forma líquida. Quando ativados (p.e. com trombina bovina), eles transformam-se numa substância mais consistente (Géis de P-PRP e Géis de L-PRP).(22, 62)

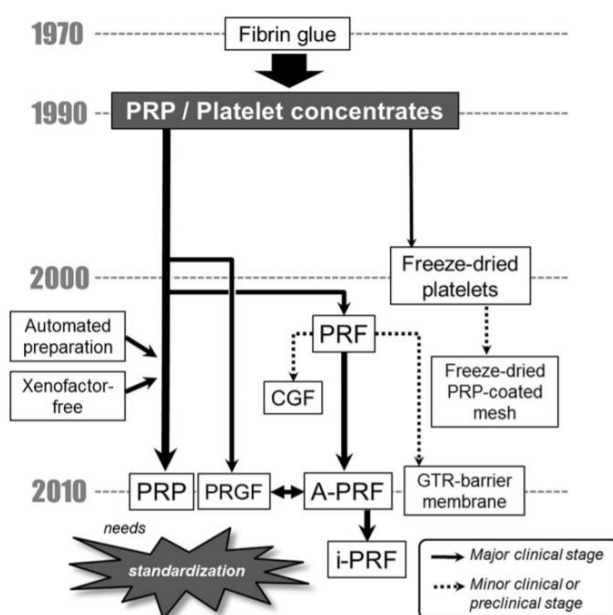


Fig. 1: Sequência cronológica do aparecimento de concentrados plaquetários.(62) PRP, Plasma rico em plaquetas; PRF, Fibrina rica em plaquetas; CGF, Concentrado de fatores de crescimento; PRGF, Plasma rico em fatores de crescimento; A-PRF, Fibrina rica em plaquetas avançada; i-PRF, Fibrina rica em plaquetas injetável; GTR, regeneração tecidual guiada. (Imagem usada sem permissão do autor)

## FIBRINA RICA EM LEUCÓCITOS E PLAQUETAS (L-PRF)

O protocolo L-PRF de Choukroun é uma técnica simples e gratuita desenvolvida na França por Choukroun e a sua equipa. Distingue-se dos seus antecessores por não envolver quaisquer anticoagulantes ou agentes gelificantes na produção e, por isto, é frequentemente classificado como concentrado plaquetário de segunda geração.(21, 22) Além disso, distintamente da maioria dos concentrados plaquetários que apresentam consistência semelhante à cola de fibrina, dissolvendo-se rapidamente quando aplicados, o L-PRF tem consistência sólida e é lentamente remodelado.(63) Em resumo, é obtido através da colheita de sangue venoso, seguida de centrifugação a baixa velocidade.(22) Após a centrifugação, formam-se três camadas: camada inferior de glóbulos vermelhos, camada superior de plasma acelular (PPP) e um coágulo de L-PRF entre elas (Fig. 2). O coágulo de L-PRF consiste numa forte matriz de fibrina com uma arquitetura tridimensional complexa que hospeda a maioria das plaquetas e leucócitos do sangue colhido.(14, 24, 64) Como não envolve anticoagulantes, a ativação plaquetária e a polimerização de fibrina são desencadeadas imediatamente após a colheita de sangue. A ativação das plaquetas leva a uma substancial incorporação de fatores de crescimento, libertados pelas plaquetas e leucócitos, na matriz de fibrina.(13, 14, 65)

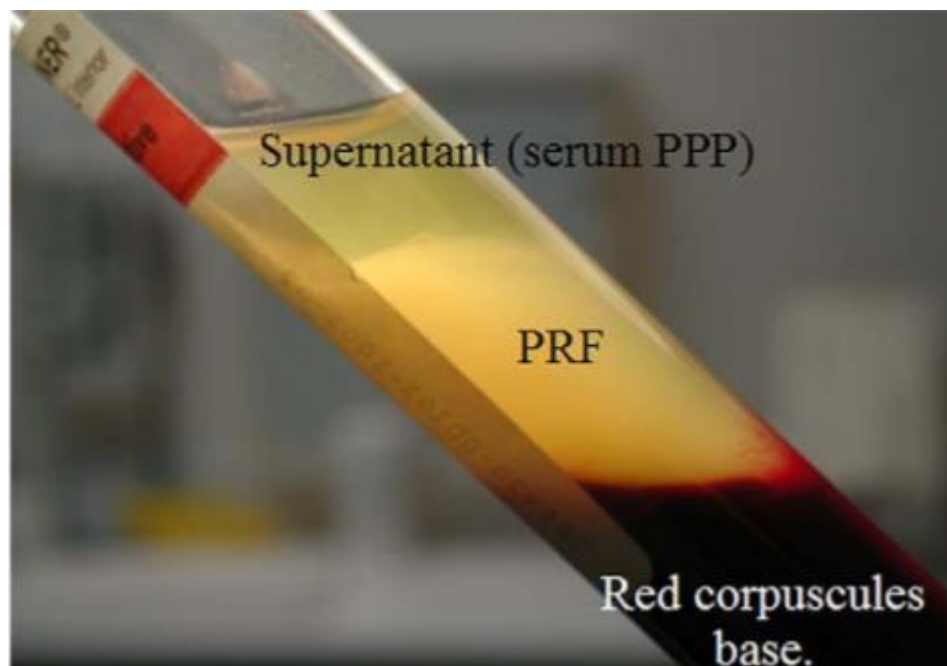


Fig. 2: As três camadas após a centrifugação.(24) *(Imagem usada sem permissão do autor)*

## **1. Propriedades**

### **1.1 Propriedade hemostática**

Logo durante a colheita do sangue, as plaquetas são ativadas em larga escala. Essa ativação é potencializada pelo contato com as partículas residuais de vidro nas paredes do tubo de colheita. Consequentemente, os processos de desgranulação e agregação são iniciados. A trombina circulante no tubo de colheita quebra o fibrinogênio em monômeros de fibrina. Os monômeros ligam-se entre si até formar uma matriz tridimensional de fibrina que dá a aparência gelatinosa ao conteúdo do tubo.(13, 66) No final da centrifugação, a rígida conformação tridimensional do L-PRF pode servir como um tampão mecânico, auxiliando na cessação da hemorragia ao mesmo tempo que orienta a migração celular e a cicatrização.(13)

A membrana de L-PRF liberta lentamente TSP-1 (65) que possui diversas funções, sendo uma delas conferir proteção ao fator von Willebrand contra a proteólise.(67) Esta ação auxilia na estabilização e proteção do coágulo, característica que pode ser útil em pacientes propensos a hemorragias prolongadas.(65) Mais testes são necessários para comprovar sua viabilidade nesta questão.

### **1.2 Propriedade anti-inflamatória**

Os concentrados plaquetários têm a capacidade de regular as reações inflamatórias e estimular o sistema imunológico por quimiotaxia. Como reação aos fenômenos hemostáticos, os leucócitos são ativados por centrifugação, libertando assim citocinas pró e anti-inflamatórias (p.e. IL-4). (14)

Proteínas como  $\alpha$ 1-antitripsina, inibidor da inter- $\alpha$ -tripsina e inibidor da protease C1 que são conhecidas por terem propriedades anti-inflamatórias foram encontradas na membrana de L-PRF.(68)

### **1.3 Propriedade angiogénica**

As células endoteliais colonizam a matriz de fibrina pela ação de citocinas e glicoproteínas circulantes no sangue. Estas células libertam fatores angiogénicos como VEGF e TNF- $\alpha$  que estimulam a neoangiogénese. As células endoteliais, bem como os

fatores de crescimento, utilizam integrinas para se ligarem à fibrina na matriz. Essas duas conexões induzem a formação de vasos.(64) Além disso, a proteína haptoglobina(68), os ligandos do CXCR-2 (IL-8, ENA-78, GRO e NAP-2) e o EFG presentes na membrana têm efeitos pró-angiogénicos.(69)

A juntar ao seu papel anti-infecioso, os leucócitos também podem produzir VEGF. Este facto pode ser importante na promoção da angiogénese, uma vez que as plaquetas colhidas do sangue contêm quantidades semelhantes de estimuladores (VEGF, bFGF) e inibidores (endostatina, TSP-1) da angiogénese.(70)

#### **1.4 Regeneração óssea guiada (ROG)**

A ROG foi introduzida no campo da medicina dentária no final dos anos 80 com base na evidência que suporta diferentes velocidades de cicatrização entre tecidos duros e moles. O conceito original consistia em usar materiais que impedissem que as células epiteliais de rápido crescimento invadissem os defeitos ósseos, para que estes conseguissem ter uma cicatrização correta.(71) Esse conceito evoluiu e parâmetros adicionais ao material de ROG foram introduzidos incluindo a manutenção do espaço, capacidade de formar um coágulo sanguíneo, estabilização mecânica, potencial de infiltração celular, propriedades de biocompatibilidade e reabsorção. (72) As membranas de L-PRF enquadram-se nestes parâmetros.

Verificou-se que o L-PRF aumenta o crescimento e proliferação de osteoblastos. No entanto, os mecanismos subjacentes ainda não são completamente compreendidos.(73, 74) Kim et al(75), concluiu que é espectável que seja eficaz na melhoria da regeneração óssea, pois contém fatores como PDGFs e TGF- $\beta$  que estão envolvidos na atividade osteoblástica e regeneração tecidular(76). Mazor et al.(77), Simonpieri et al.(78) e Tajima et al.(79) avaliaram a eficácia da membrana de L-PRF como único material na elevação do seio maxilar com a colocação simultânea de implante. Todos concluíram que este material poderá promover a regeneração óssea natural dado que foi produzido tecido denso semelhante a osso no lugar onde se encontrava a membrana. Mais testes são necessários para comprovar sua viabilidade nesta questão.

### **1.5 Liberação de citocinas e fatores de crescimento**

Estudos demonstraram que L-PRF pode liberar importantes fatores de crescimento e citocinas, incluindo PDGF-AB, TGFB-1, VEGF, EGF, IGF-1 (65, 80, 81), PDGF-AA, PDGF-BB(81), interleucina (IL)-1B, IL-4 e IL-6(13).

A quantidade total de fatores libertados pela membrana mostrou-se significativamente maior do que as quantidades totais extraídas logo após a sua preparação, o que indica que as células presas na matriz podem ser as responsáveis pela sua produção.(65)

### **1.6 Atividade anti-infeciosa**

Os leucócitos têm um papel anti-infecioso.(38) As suas capacidades de defesa contra infecções advêm não apenas do efeito direto nos corpos estranhos e das propriedades quimiotáticas das citocinas libertadas, mas também da sua capacidade de facilitar o acesso de outras células imunitárias ao local da lesão (neovascularização).(14) Mais de metade dos leucócitos extraídos do sangue são encontrados aprisionados no L-PRF. Devido à força de centrifugação, eles estão concentrados na transição entre a “parte amarela” (coágulo de fibrina) e a “parte vermelha” (rica em glóbulos vermelhos) (Fig. 2 e Fig. 7).(70) Também foi demonstrado que o L-PRF contém quantidades abundantes de IgG.(68)

Uma revisão sistemática de 2016 realizada por Fabbro et al.(82) relatou que foi realizado um estudo(83) sobre as propriedades antimicrobianas específicas do L-PRF. Após verificação, o material foi erroneamente identificado como L-PRF. Na verdade, os pesquisadores utilizaram a trombina como ativador. Como tal, o protocolo não corresponde ao do L-PRF. Embora algumas investigações direcionadas ao efeito do L-PRF em bactérias orais específicas tenham sido feitas, elas não especificam que parte da membrana foi cortada para avaliar a propriedade antimicrobiana.(84, 85) Assim, apesar de alguns resultados positivos, não sabemos se estes refletem a capacidade de resposta máxima da membrana.

## 2. Comparação do L-PRF com outros concentrados plaquetários

### 2.1 L-PRF vs Plasma rico em plaquetas (PRP)

A tabela I, adaptada da revisão sistemática conduzida por Nanditha et al. Em 2017(86) compara de forma resumida o PRP ao L-PRF. Além dos parâmetros listados, é importante observar que os procedimentos de PRP envolvem várias etapas que podem alterar a previsibilidade da qualidade do produto resultante.(66)

### 2.2 L-PRF vs Fibrina rica em plaquetas avançada (A-PRF)

A-PRF é apresentado como uma evolução do L-PRF. A justificação, disponível para consulta no site, é que a vascularização da lesão ocorre mais cedo, a cicatrização dos tecidos moles é mais rápida e a liberação de citocinas e moléculas osteoindutoras é maior, o que supostamente deveria potencializar a regeneração óssea. Kobayashi et al.(81) fizeram um estudo em 2016 a comparar a liberação de fatores de crescimento entre PRP, PRF e A-PRF. Os resultados mostraram que o A-PRF estimulou uma liberação significativamente maior de fatores de crescimento ao longo do tempo. No entanto, Dohan et al(87) fizeram um estudo em 2017, demonstrando uma maior quantidade de fatores de crescimento a ser libertada do L-PRF quando comparado ao A-PRF. Além disso, o A-PRF dissolvia-se após 3 dias, enquanto que o L-PRF permanecia estável durante 7 dias. O tamanho do coágulo de A-PRF apresentava-se menor, mais frágil e assimétrico quando comparado ao L-PRF.(87) Ambos os estudos indicaram o mesmo protocolo (2700rpm, 12min para L-PRF e 1500rpm, 14min para A-PRF), mas a centrífugadora no estudo de Kobayashi não foi especificada. Não é possível retirar conclusões, pelo que são necessários mais estudos reprodutíveis e fiáveis.

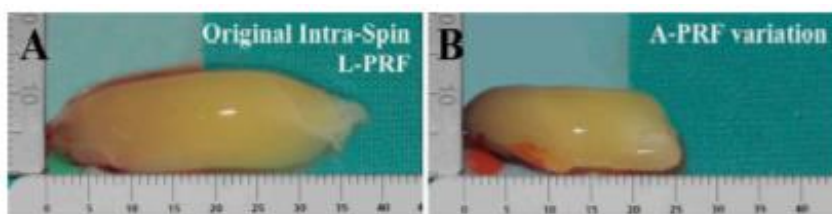


Fig. 3 – Avaliação macroscópica dos coágulos PRF: sistema Intra-Spin L-PRF (A), sistema A-PRF (B).(87) *(Imagem usada sem permissão do autor)*

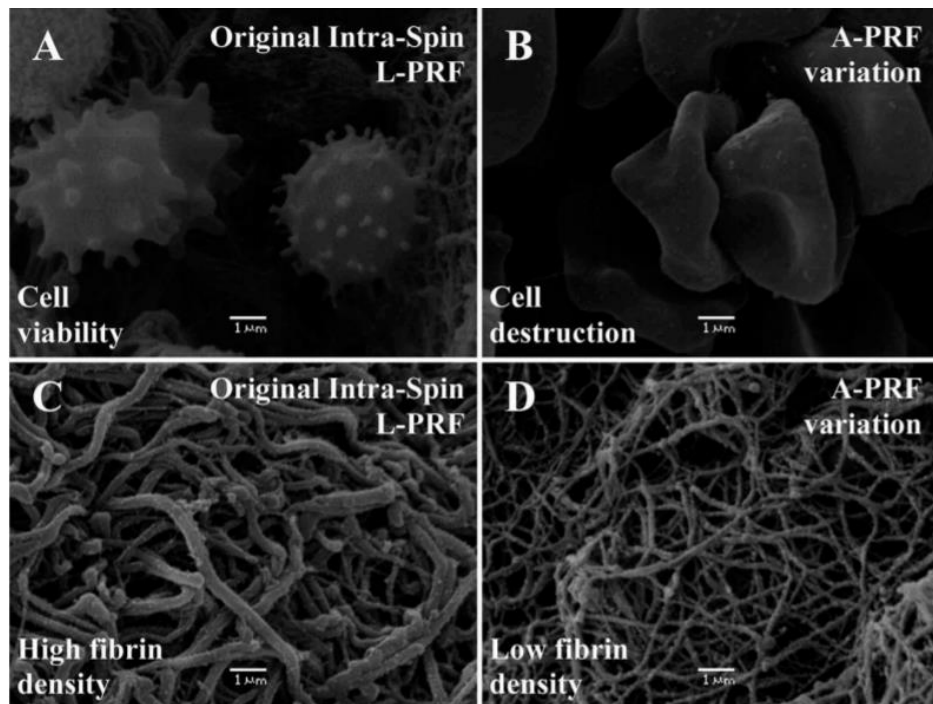


Fig. 4 – Avaliação microscópica e comparação das membranas de PRF produzidas com duas centrifugadoras diferentes. As membranas Intra-Spin L-PRF (A, C) apresentaram uma grande população de células (A), e todas as células observadas aparentam estar vivas e com uma forma normal. Os linfócitos apresentaram um aspeto superficial texturizado típico dos linfócitos ativados. Além disso, a matriz de fibrina aparece fortemente polimerizada com fibras de fibrina grossas (C). Pelo contrário, nas membranas de A-PRF (B, D), todos os corpos celulares visíveis pareciam ser esmagados ou encolhidos (B), e o gel de fibrina apresentava uma matriz de fibrina levemente polimerizada com fibras de fibrina finas (D).(87) *(Imagem usada sem permissão do autor)*

### 2.3 L-PRF vs Fibrina rica em plaquetas injetável (i-PRF)

É a última versão dos concentrados plaquetários. Devido ao atraso na coagulação, esta versão está disponível na forma líquida permitindo que seja injetada no local da ferida ou misturada com aloenxertos ósseos. A libertação de fatores de crescimento parece ser amplificada, o que poderia proporcionar uma maior migração de fibroblastos e, assim, acentuar a síntese de colagénio. Além disso, parece conter alto nível de leucócitos, o que poderia torná-lo interessante na estimulação da regeneração óssea.(88)

### 3. Protocolo

Como já foi dito anteriormente, não há um protocolo universalmente estabelecido. O original proposto por Choukroun descrevia a aplicação de uma velocidade de rotação de 3000rpm durante 10min..(23) Entretanto esse protocolo evoluiu para 2700rpm durante 12min(70) uma vez que com ele obtiam-se uma melhor polimerização do L-PRF.(89, 90) Depois do primeiro *European Meeting on Enhanced Natural Healing in Dentistry* em 2016, foram publicadas as diretrizes consensuais sobre o uso de L-PRF. Os seguintes protocolos foram extraídos desse documento.(91)

Antes de prosseguir, é importante referir que a escolha da centrífuga parece afetar a qualidade da membrana. Um estudo feito por Dohan e sua equipa em 2017(87) comparou 4 centrífugas diferentes: centrífuga A-PRF 12 (Advanced PRF, Nice, França), centrífuga LW - UPD8 (LW Scientific, Lawrenceville, GA, EUA) , a centrífuga Salvin 1310 (Salvin Dental Specialties, Charlotte, NC, EUA) e a centrífuga L-PRF Intra-Spin (Intra-Lock International, Boca-Raton, FL, EUA). Sendo que a última é a única certificada pela CE e aprovada pela FDA. Eles concluíram que, ao contrário das restantes, a centrífuga Intra-Spin L-PRF permanece dentro do limiar de ressonância, o que significa menos danos às células sanguíneas nos tubos. Usando o protocolo original de L-PRF, as centrífugas A-PRF, LW e Salvin produzem materiais semelhantes a L-PRF. Não são verdadeiramente L-PRF uma vez que a população de células se apresentou danificada e quase destruída. Quanto à libertação de fatores de crescimento (TGF- $\beta$ 1, PDGF-AB, VEGF, BMP2), tamanho do coágulo e manutenção da forma, nos três parâmetros a centrífuga Intra-Spin apresentou melhores resultados. Mais estudos são necessários para tirar conclusões significativas.

#### 3.1 Preparação do coágulo de L-PRF

Antes do início da cirurgia, é realizada uma punção venosa na veia basilica mediana, veia mediana cefálica ou veia cubital mediana (p.e. com uma agulha borboleta 21G BD Vacutainer®).

O sangue é aspirado para 4 a 8 tubos estéreis de 9 ml sem qualquer anticoagulante (p.e. tubo BD Vacutainer® CATclot). Estes tubos têm que estar na centrífuga dentro de 60-90 segundos após a colheita, a fim de evitar mudanças significativas na estrutura/tamanho/propriedades do coágulo.(92) Para que isso

aconteça, a centrífugadora é carregada com 2 tubos de cada vez, com centrifugação imediata entre a colheita de tubos.

A centrifugação é feita a 408g (2700rpm) durante pelo menos 12min utilizando uma centrífugadora apropriada (p.e. IntraSpin™, Intra-Lock, Boca Raton, FL, EUA, única centrífugadora aprovada pela CE/FDA). Os 12 minutos começam a contar depois da colocação dos 2 últimos tubos na centrífugadora. No caso de pacientes medicados com anticoagulantes, recomendam-se 15 a 18 minutos de centrifugação.

No final deste processo, os coágulos têm que ser retirados dos tubos e separados dos glóbulos vermelhos.(91) Como a localização da maior concentração de leucócitos e plaquetas está na transição entre o coágulo de fibrina e os eritrócitos, é necessário preservar uma pequena camada de eritrócitos na extremidade do coágulo de L-PRF para recolher o máximo possível de células úteis. A remoção do excesso de glóbulos vermelhos é feita com uma tesoura.(70)

Depois do coágulo estar pronto, membranas ou *plugs* podem ser preparados.(91) A compressão é importante para a condensação dos filamentos de fibrina.(70) Para formar membranas, os coágulos podem ser colocados no kit Xpression™ durante 5 minutos para uma compressão suave por gravidade. Para a preparação dos *plugs*, os coágulos são colocados no pequeno cilindro da caixa de metal e um pistão é usado para comprimir cuidadosamente o coágulo. As membranas, assim como os *plugs*, podem manter suas propriedades até 2h, mas elas precisam de ser mantidas húmidas.

As mulheres e os pacientes idosos parecem produzir membranas maiores, provavelmente devido à menor contagem de eritrócitos no sangue periférico.(92)

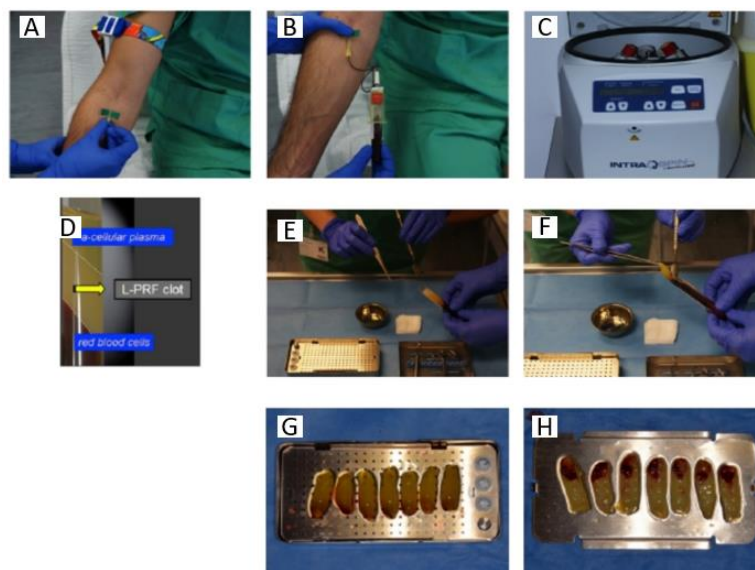


Fig. 5 – Etapas ilustradas do protocolo de obtenção de membranas de L-PRF.(91)  
(Imagem usada sem a permissão do autor)

### 3.2 Preservação do rebordo alveolar

Em primeiro lugar deve ser realizada uma extração dentária com máxima preservação do osso alveolar, seguida pela remoção do tecido de granulação. Se for o caso, o exsudado obtido após a compressão de coágulos de L-PRF pode ser usado para irrigar e limpar o alvéolo.

Seguidamente, um envelope entre o osso e a mucosa com cerca de 2 a 3 mm de extensão deve ser criado. Os *plugs* de L-PRF ( $\pm$  3-5 *plugs*) são introduzidos um a um com a parte rica em leucócitos e plaquetas voltada para o osso. Entre cada colocação, eles devem ser vigorosamente comprimidos com o condensador de amálgama e o soro supérfluo deve ser absorvido com uma gaze.

Depois de se introduzirem todos os *plugs*, o alvéolo deve ser coberto com pelo menos uma camada dupla de membranas de L-PRF. As membranas devem ser inseridas entre o periósteo e o retalho (no tal envelope), sempre com a parte rica em leucócitos e plaquetas voltada para o osso, a fim de selar o alvéolo e impedir que os tecidos moles invadam o alvéolo.

Para terminar, prossegue-se para a sutura. O objetivo da sutura é manter as membranas no lugar e não tracionar os tecidos forçando o fechamento dos bordos da ferida.

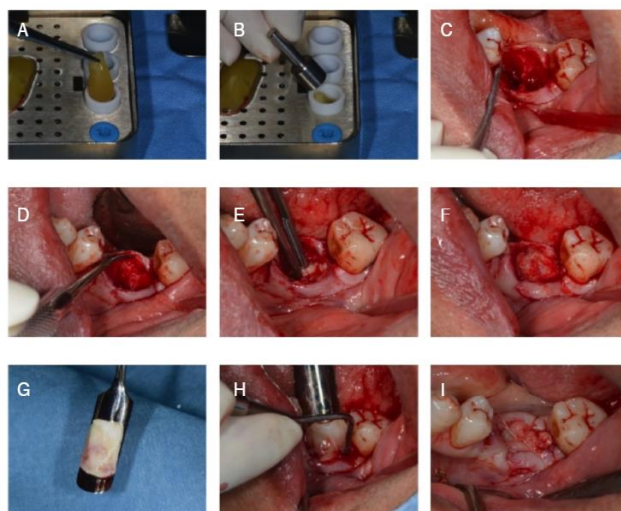
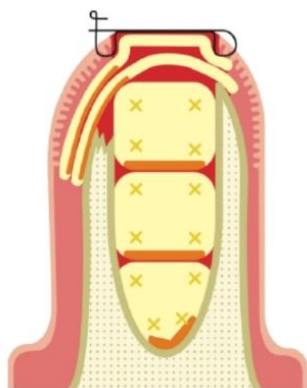


Fig. 6 – Etapas ilustradas da preservação do rebordo alveolar usando L-PRF.(91)  
(Imagem usada sem a permissão do autor)

O motivo pelo qual uma parte específica da membrana deve estar voltada para o osso está relacionado com o facto de que a maioria das células originárias da amostra de sangue está presente numa camada intermediária localizada entre a camada de eritrócitos e o coágulo de fibrina.(70) Esta região é chamada *macroscopic buffy coat* (Fig. 7).(13, 70) Deste modo, não se pode esperar os mesmos efeitos clínicos das duas extremidades da mesma membrana.(70)

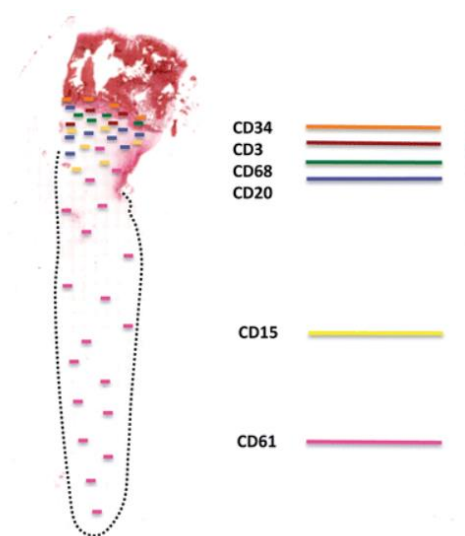


Fig. 7: Coloração com hematoxilina e eosina (H&E), aumento de 100x. A parte superior corresponde à interface coágulo de L-PRF/eritrócitos. Distribuição de plaquetas (células positivas para CD61), neutrófilos (positivos para CD15), linfócitos-T (células positivas para CD3), linfócitos B (células positivas para CD20), células estaminais (células positivas para CD34) e monócitos (Células positivas para CD68).(93) (Imagem usada sem autorização do autor).

# EFICÁCIA DAS MEMBRANAS DE FIBRINA RICAS EM LEUCÓCITOS E PLAQUETAS NA GESTÃO DE COMPLICAÇÕES LOCAIS APÓS EXTRAÇÃO DE TERCEIROS MOLARES MANDIBULARES

## 1. Alveolite (AO)

Quatro *split-mouth* ERCs foram encontrados.(94-97) A descrição do método de diagnóstico foi semelhante em todos os quatro artigos (ver Tabela V). Quanto à prescrição de antibióticos(ver tabela IV): apenas um fez profilaxia pré-operatória (96) sem antibióticos no pós-operatório; dois prescreviam apenas antibióticos pós-operatórios(95, 97) e apenas um não prescreveu de todo(94). A prescrição de clorexidina foi transversal a todos os estudos, com exceção de um(97).

A maioria apresentou um efeito significativamente positivo na redução da ocorrência de alveolite quando L-PRF foi aplicado (Eshghpour et al.(97) n=78, p=0.042; Daugela et al.(96) n=30, p=0.001, Al-Hamed et al.(95) n=25, p=0.037). Houve apenas um ERC(94) onde, embora o número de casos de AO foi menor no grupo L-PRF, a diferença não foi suficiente para ser estatisticamente significativa. Porém, quando compararam os resultados apenas entre fumadores, a incidência de OA foi significativamente reduzida quando L-PRF foi aplicado (p=0.018) – 0/16 no grupo L-PRF, 6/16 no grupo controlo).

## 2. Dor pós-operatória e consumo de analgésicos

Em relação à avaliação da dor no pós-operatório, foram encontrados dez ERCs.(94-96, 98-104) Três deles têm um desenho *parallel-group* (95, 98, 101) e os demais têm um desenho *split-mouth*. O momento de registo dos valores foi relativamente similar em todos os estudos (ver Tabela V). Todos, exceto Kumar et al.(99) (escala numérica de dor) e Unsal et al.(94) (escala verbal de dor), usaram a escala VAS para medir a dor. Quanto à medicação, apenas um estudo(99) não mencionou quais os fármacos que foram utilizados. Quanto às diferenças na medicação, consulte a Tabela IV. Três ERCs(95, 100, 101) também avaliaram o consumo de analgésicos.

Quatro estudos *split-mouth* mostraram uma redução significativa no nível de dor (Kumar et al. (99) n=34,1d/3d/1s, p=0.00; Uyanik et al. (100) n=10, soma dos 7 dias, p=0.001; Unsal et al.(94) n=50, 1d p=0.049 e 1s p=0.017; Daugela et al.(96) n=30,

soma dos 7 dias,  $p=0.001$ ). Os mesmos resultados foram obtidos com os três estudos com um desenho *parallel-group* – Kumar et al.(98)  $n=16$  L-PRF/ $n=15$  Controlo, 1d,  $p=0.017$ ; Bilginaylar et al.(101)  $n=20$  L-PRF/ $n=20$  Controlo, soma dos dias 1, 2, 3, e 7,  $p=0.001$ ; Al-Hamed et al.(95)  $n=25$  L-PRF/ $n=25$  Controlo, 5d  $p=0.041$ , 6d  $p=0.031$  e 7d  $p=0.00$ . Entre dez estudos, três estudos não mostraram diferença estatisticamente significativa(102-104). Mas todos os três exageraram na prescrição analgésica (ver Tabela IV).

Quanto ao consumo de analgésicos, três estudos foram encontrados (95, 100, 101). Um deles não apresenta diferença estatisticamente significativa entre o grupo controlo e o grupo de estudo(100), os restantes dois demonstram um efeito estatisticamente significativo quando o L-PRF é aplicado. (Tabela V)

### 3. Edema

Cinco artigos foram encontrados - dois ERCs com um desenho *parallel-group* (98, 101) e três com um desenho *split-mouth*(100, 102, 103). O momento de registo dos valores foi relativamente similar em todos os artigos (ver Tabela V). Antibióticos, bochecho oral com colutório antisséptico e analgésicos pós-operatórios foram transversais a todos os estudos em doses relativamente semelhantes. (ver Tabela IV) Os métodos utilizados para avaliar o inchaço diferem: dois utilizaram o método de Gabka e Matsumura modificado(100, 101), um usou uma referência horizontal e vertical(102), um utilizou uma escala VAS descrita por Pasqualini et al(98), e um outro usou *3dMD imaging system*(103).

Três não apresentaram resultados significativos em nenhum ponto de medição (100, 101, 103). Dois estudos mostraram alguma diferença estatisticamente significativa – Ozgul et al.(102)  $n=56$ , 1d  $p=0.041$ , 3d  $p=0.001$ ; Kumar et al.(98)  $n=16$  L-PRF/ $n=15$  Controlo, 1d  $p=0.022$ .

### 4. Regeneração óssea

Cinco ERCs foram encontrados.(98, 99, 104-106) Um dos estudos usou o desenho *parallel group*(98) enquanto que os restantes usaram o desenho *split-mouth*. O momento de registo dos valores foi relativamente similar em todos os artigos, mas os métodos utilizados para a obtenção dos resultados diferem (Tabela IV). Quanto a

alveolites, dois artigos(98, 99) não especificaram a ocorrência. Sabe-se que nenhum paciente no estudo de Ritto et al(104), um paciente do grupo controlo no estudo de Gürbüz et al(105) e dois pacientes do grupo controlo no estudo de Baslari et al.(106) desenvolveram infeção.

Gürbüz et al(105) e Baslari et al(106) mediram a atividade osteoblástica através da cintigrafia. Ambos mostraram resultados estatisticamente não significativos. Observou-se que a cintigrafia óssea não é sensível o suficiente para avaliação da massa óssea, pois a hipercaptação de T-99 na região mandibular pode ser aumentada mesmo em processos de reabsorção.(27) Nas investigações de Kumar et al (98, 99), embora valores maiores de captação tivessem sido registrados no local tratado com L-PRF a diferença não foi estatisticamente significativa em todos os momentos de medição. Ritto et al (104) mostraram maior massa óssea nos alvéolos tratados com L-PRF quando comparadas ao grupo controlo aos três meses (n=17, p=0.007).

## **5. Sondagem periodontal**

Três estudos ERCs foram encontrados.(94, 98, 106) Um deles tinha um desenho *parallel-group*(98) e os restantes tinham um desenho *split-mouth*. O momento do registo dos valores e o método foi relativamente semelhante em todos os artigos (ver Tabela V). Baslarli et al.(106) e Unsal et al(94) não mostraram resultados estatisticamente significativos. Apenas Kumar et al.(98) mostraram diferença significativa na sondagem entre o 1º e 3º meses após a cirurgia (p<0.001).

## **6. Trismo**

Quatro estudos ERCs foram encontrados.(98, 100, 101, 103) Um deles tinha um desenho *parallel-group*(98) e os restantes tinham um desenho *split-mouth*. O momento de registo dos valores e o método foi relativamente semelhante em todos os artigos (ver Tabela V). Dois apresentaram resultados estatisticamente significativos no dia 1 após a cirurgia (Kumar et al.(98) n=16 L-PRF/n=15 Controlo, p=0.04; Uyanik et al.(100) n=10, p=0.011). No entanto, os dois estudos restantes não mostraram resultados estatisticamente significativos em qualquer medição.

## 7. Cicatrização dos tecidos moles

Dois ERCs com um desenho *split-mouth*(96, 104) e dois ERCs com um desenho *parallel group*(95, 107) foram encontrados. Todos usaram o método de Landry et al. para avaliar a cicatrização dos tecidos moles excepto um(107) que utilizou uma combinação dos métodos de Landry et al e Cervelli et al.

O estudo com desenho *parallel group*(95) bem como estudo de Ritto et al.(104) não mostraram resultados estatisticamente significativos. Daugela et al.(96) mostraram melhor índice de cicatrização nos locais de L-PRF no 1º, 3º, 7º e 14º dias (n=30 1d, p=0.001; 3d, p=0.001; 1s, p=0.002; 2s, p=0.023). Afat et al.(107) obtiveram melhor cicatrização nos alvéolos do grupo de estudo nas semanas 1, 2 e 3 após extração, tendo todas as medições um valor p de 0,001. Os resultados de Ritto et al.(104) não devem ser considerados, pois eles não mencionam em que momento foi feita a medição.

## DISCUSSÃO

O objetivo desta revisão foi reunir a informação existente até à data sobre a eficácia das membranas de fibrina ricas em leucócitos e plaquetas na gestão de complicações locais após extração de terceiros molares mandibulares, nomeadamente alveolite, dor pós-operatória, edema e trismo. A cicatrização óssea, a profundidade de sondagem distal do segundo molar inferior e a cicatrização tecidual também foram avaliadas.

Podemos concluir que os existentes estudos sugerem fortemente que o L-PRF tem um efeito positivo na diminuição da ocorrência de alveolite e dor pós-operatória. O L-PRF pode melhorar o controlo do edema, trismo e cicatrização de tecidos moles, mas não parece afetar a sondagem periodontal a distal do segundo molar mandibular nem a regeneração óssea.

Há detalhes importantes que merecem ser mencionados. Em primeiro lugar, o protocolo de obtenção da membrana de L-PRF e a sua aplicação na preservação do rebordo alveolar devem ser padronizados. Quando a Tabela II é analisada, percebe-se a heterogeneidade dos protocolos e centrifugadoras utilizadas para a obtenção do concentrado plaquetário. Esta heterogeneidade não garante que a qualidade das membranas seja a mesma. A maioria aplica apenas um coágulo não comprimido no alvéolo, o que, dado o efeito dose-dependente do L-PRF, pode não ser suficiente para alcançar os resultados máximos. Em segundo lugar, o desenho dos estudos deve ser planeado de acordo com as variáveis avaliadas. Por exemplo, quando a alveolite é avaliada, os antibióticos não devem ser prescritos em pacientes saudáveis. Dos quatro estudos (94-97), apenas um(94) respeitou esta lógica. A mesma linha de pensamento, mas com diferentes medicamentos, pode ser aplicada noutras variáveis para obter resultados menos dúbios. Embora quatro ERCs com desenho “parallel group”(95, 98, 101, 107) tenham sido incluídos neste estudo, os desenhos *split-mouth* devem ser o *gold standard* para evitar a intervenção da heterogeneidade individual. Também, o intervalo de tempo entre as extrações nos casos de estudos *split-mouth* deve ser estabelecido dependendo da variável avaliada. Por exemplo, quando temos em consideração a dor pós-operatória, um tempo para recuperação deve ser dado antes da próxima intervenção, para que a percepção da dor do paciente volte ao seu estado basal.

Em suma, embora possam ser retiradas conclusões a respeito de algumas variáveis, os resultados obtidos devem ser interpretados com cautela, devido à falta de estudos minuciosamente planeados bem como o pequeno tamanho da amostra.

## CONCLUSÃO

Os estudos existentes permitem concluir que as membranas ricas em plaquetas e leucócitos promovem uma diminuição da incidência de alveolite e dor pós-operatória. Parecem ajudar na diminuição de edema, trismos e cicatrização dos tecidos moles. No entanto, não parecem influenciar a regeneração óssea nem a profundidade de sondagem na superfície distal do segundo molar.

Investigações adicionais são necessárias usando ensaios controlados e randomizados com um desenho *split-mouth* com aplicação de protocolos padronizados tanto para a preparação da membrana de L-PRF (rpm, força g, tempo de centrifugação, características de centrifugadora) e como para a aplicação do L-PRF na preservação do rebordo alveolar (comprimido/não comprimido, nº de membranas/coágulos/*plugs*), a fim de permitir uma análise fidedigna dos estudos que permita chegar a conclusões válidas.

Ideias que merecem atenção para futura investigação no campo da regeneração óssea incluem o uso de L-PRF puro, mas com um maior número de membranas, L-PRF associado a enxerto ósseo autógeno derivado de dente(108) e L-PRF associado a Bio-Oss(109, 110). Também o potencial das membranas L-PRF na recuperação da parestesia após lesão do nervo alveolar inferior(111, 112), ajuda do L-PRF na diminuição do risco de osteonecrose dos maxilares após extração (113-115) e incorporação de Antibióticos em membranas L-PRF para liberação lenta em cavidades pós-extração de pacientes imunocomprometidos(116) parecem ser tópicos interessantes para futura pesquisa.

# **TABELAS**

**Tabela I – Comparação do PRP versus L-PRF. Adaptado de Nanditha et al.(86)**

|                                                  | <b>PRP</b>                                                                                                                                                                                                  | <b>L-PRF</b>                                                                                                                                                                                    |
|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Composição</b>                                | 1. Fibrina<br>2. Plaquetas<br>3. Leucócitos<br>4. Citocinas e fatores de crescimento (TGF-B, IGF, PDGF, VEGF, EGF. BMP2)<br>5. Proteínas plasmáticas (fibrinogénio)<br>6. Trombina bovina e anticoagulantes | 1. Fibrina<br>2. Plaquetas<br>3. Leucócitos<br>4. Citocinas e fatores de crescimento (TGF-B, IGF, PDGF, VEGF, EGF. BMP2)<br>5. Proteínas plasmáticas (fibrinogénio, fibronectina, vitronectina) |
| <b>Puramente autólogo</b>                        |                                                                                                                                                                                                             | •                                                                                                                                                                                               |
| <b>Sem aditivos químicos</b>                     |                                                                                                                                                                                                             | •                                                                                                                                                                                               |
| <b>Económico</b>                                 |                                                                                                                                                                                                             | •                                                                                                                                                                                               |
| <b>Preparação requer anticoagulantes (Cacl2)</b> | •                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                 |
| <b>Auxilia na cicatrização</b>                   | •                                                                                                                                                                                                           | •                                                                                                                                                                                               |
| <b>Potencial regenerativo</b>                    | •                                                                                                                                                                                                           | •                                                                                                                                                                                               |
| <b>Fonte de fatores de crescimento</b>           | •                                                                                                                                                                                                           | •                                                                                                                                                                                               |
| <b>Propriedades hemostáticas</b>                 | •                                                                                                                                                                                                           | •                                                                                                                                                                                               |
| <b>Proliferação e migração celular</b>           |                                                                                                                                                                                                             | •                                                                                                                                                                                               |
| <b>Libertação de fatores de crescimento</b>      | • Libertação massiva durante a primeira hora                                                                                                                                                                | • Libertação alonga-se no tempo até uma semana                                                                                                                                                  |
| <b>Auxilia o sistema imunitário</b>              |                                                                                                                                                                                                             | •                                                                                                                                                                                               |

**Tabela II – Comparação dos protocolos de obtenção de L-PRF nos estudos incluídos. (NM – não mencionado)**

|                                                 | <b>Momento de coleção/<br/>centrifugação</b>       | <b>Quantidade de sangue por coágulo</b> | <b>Tipo de tubo</b>                                                                                         | <b>Tipo de centrífugadora</b>               | <b>Velocidade de rotação, força g, tempo</b> | <b>Coágulo comprimido/não comprimido</b> | <b>Nº de coágulos/membranas/<i>plugs</i> por alvéolo</b> |
|-------------------------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|----------------------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| <b>Gürbüzer et al (2010)<sup>(105)</sup></b>    | 20min antes da cirurgia;<br>Centrifugação imediata | 10mL                                    | Tubo de plástico com cobertura de vidro, neutro e sem anticoagulantes (16x100mm; Isolab, Wertheim, Germany) | Universal 320, Hettich, Tuttlingen, Germany | 2030rpm<br>400g<br>10min                     | Não comprimido                           | 1 coágulo                                                |
| <b>Eshghpour et al (2014)<sup>(97)</sup></b>    | Antes da cirurgia;<br>Centrifugação imediata       | 10mL                                    | NM                                                                                                          | Labofuge 400R, Heraeus, Hanau, Germany      | 3000rpm<br>NM g force<br>10min               | Não comprimido                           | 1 coágulo                                                |
| <b>Baslari et al (2015)<sup>(106)</sup></b>     | Antes da cirurgia; NM                              | 9mL                                     | Tubo de plástico com cobertura de vidro sem anticoagulantes                                                 | NM                                          | 3000rpm<br>NM g force<br>10min               | Comprimido                               | 1 membrana                                               |
| <b>Bilginaylar et al (2015)<sup>(101)</sup></b> | 15min antes da cirurgia;<br>Centrifugação imediata | NM                                      | 10mL Tubo de plástico com cobertura de vidro sem anticoagulantes                                            | Elektro-mag M415P, Istanbul, Turkey         | 3000rpm<br>Por volta de 400g<br>10min        | Não comprimido                           | 1 coágulo                                                |
| <b>Kumar et al (2015)<sup>(98)</sup></b>        | Depois da cirurgia;<br>Centrifugação imediata      | NM                                      | 10mL Tubo de plástico com cobertura de vidro sem anticoagulantes                                            | NM                                          | 3000rpm<br>NM g force<br>10min               | Não comprimido                           | 1 coágulo                                                |
| <b>Ozgul et al (2015)<sup>(102)</sup></b>       | Antes da cirurgia; NM                              | 10mL                                    | Tubo de plástico com cobertura de vidro sem anticoagulantes                                                 | NM                                          | 3000rpm<br>NM g force<br>10min               | Comprimido                               | 1 membrana                                               |
| <b>Uyanik et al (2015)<sup>(100)</sup></b>      | 15min antes da cirurgia;<br>Centrifugação imediata | NM                                      | 10mL Tubo de plástico com cobertura de vidro sem anticoagulantes                                            | Elektro-mag M415P, Istanbul, Turkey         | 3000rpm<br>Por volta de 400g<br>10min        | Não comprimido                           | 1 coágulo                                                |

|                                             |                                                         |      |                                                                                                                     |                                     |                                       |                                |                                             |
|---------------------------------------------|---------------------------------------------------------|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------------|
| <b>Kumar et al (2016)<sup>(99)</sup></b>    | NM                                                      | NM   | 10mL Tubo sem anticoagulantes                                                                                       | NM                                  | 3000rpm<br>Por volta de 400g<br>10min | Não comprimido                 | 1 coágulo                                   |
| <b>Al-Hamed et al (2016)<sup>(95)</sup></b> | NM;<br>Centrifugação imediata                           | 5mL  | Tubo sem anticoagulantes                                                                                            | 80-1 Electric centrifuge, China     | 3000rpm<br>NM g force<br>10min        | Não comprimido                 | 1 coágulo                                   |
| <b>Asutay et al (2017)<sup>(103)</sup></b>  | Imediatamente antes da cirurgia; NM                     | 10mL | Tubo sem anticoagulantes                                                                                            | NM                                  | 2700rpm<br>NM g force<br>12min        | Não comprimido                 | 1 coágulo                                   |
| <b>Daugela et al (2018)<sup>(96)</sup></b>  | Antes da cirurgia; NM                                   | 9mL  | 9mL Tubo de plástico com cobertura de vidro sem anticoagulantes (Intra-Spin, Intra-Lock International)              | EBA 20, Andreas Hettich             | 2800rpm<br>NM g force<br>12min        | Não comprimido                 | 2 coágulos                                  |
| <b>Unsal et al (2018)<sup>(94)</sup></b>    | Antes da cirurgia; NM                                   | 10mL | Tubo de plástico com cobertura de vidro sem anticoagulantes                                                         | NF 200, Nuve, Ankara, Turkey        | 3000rpm<br>NM g force<br>10min        | Não comprimido                 | 1 coágulo                                   |
| <b>Afat et al (2018)<sup>(107)</sup></b>    | Imediatamente antes da cirurgia; Centrifugação imediata | NM   | 10mL Tubo de plástico sem anticoagulantes com recobrimento de partículas de sílica (BD Vacutainer, New Jersey, USA) | Elektro-mag M415P, Istanbul, Turkey | 3000rpm<br>400g<br>10min              | 1 Comprimido<br>Não comprimido | 1 coágulo +1 membrana para cobrir o alvéolo |
| <b>Ritto et al (2019)<sup>(104)</sup></b>   | NM; Centrifugação imediata                              | NM   | 10mL Tubo sem anticoagulantes                                                                                       | NM                                  | 2700rpm<br>Por volta de 400g<br>12min | Não comprimido                 | 2 coágulos                                  |

**Tabela III** – Características gerais dos estudos incluídos. (ERC – estudo clínico randomizado controlado; NM – Não mencionado; SM – desenho *Split-mouth*; PA – Desenho *Parallel group*; M – masculino; F - feminino)

|                                                 | País      | SJR, 2017 | Tipo de estudo | Nº de pacientes | M/F    | Idade média (intervalo de idades), em anos | Nº de molares L-RF/Control |
|-------------------------------------------------|-----------|-----------|----------------|-----------------|--------|--------------------------------------------|----------------------------|
| <b>Gürbüzer et al (2010)<sup>(105)</sup></b>    | Turkey    | 0.967     | ERC (sm)       | 14              | 7:7    | 24.92 (19-33)                              | n=14/n=14                  |
| <b>Eshghpour et al (2014)<sup>(97)</sup></b>    | Iran      | 0.967     | ERC (sm)       | 78              | 33:45  | 25.09 (18-35)                              | n=78/n=78                  |
| <b>Baslari et al (2015)<sup>(106)</sup></b>     | Turkey    | 0.84      | ERC (sm)       | 20              | 7:13   | 23.9 (19-34)                               | n=20/n=20                  |
| <b>Bilginaylar et al (2015)<sup>(101)</sup></b> | Cyprus    | 0.967     | ERC (pa)       | 40              | 17:23  | GA 22.5; GB 21.75 (18-31)**                | n=20/n=20                  |
| <b>Kumar et al (2015)<sup>(98)</sup></b>        | India     | 0.967     | ERC (pa)       | 31              | NM     | 26.1 (19-35)                               | n=16/n=15                  |
| <b>Ozgul et al (2015)<sup>(102)</sup></b>       | Turkey    | 0.62      | ERC (sm)       | 56              | 23:33  | NM (18-28)                                 | n=56/n=56                  |
| <b>Uyanik et al (2015)<sup>(100)</sup></b>      | Cyprus    | 0.62      | ERC (sm)       | 10              | 4:6    | 22.5 (19-31)                               | n=10/n=10                  |
| <b>Kumar et al (2016)<sup>(99)</sup></b>        | India     | 0.967     | ERC (sm)       | 34              | NM     | NM                                         | n=34/n=34                  |
| <b>Al-Hamed et al (2016)<sup>(95)</sup></b>     | Egypt     | NM        | ERC (pa)       | 47              | 13:34  | 25.24 (18-48)                              | n=25/n=25                  |
| <b>Asutay et al (2017)<sup>(103)</sup></b>      | Turkey    | 0.4       | ERC (sm)       | 30              | 6:24   | 20.32 (18-29)                              | n=30/n=30                  |
| <b>Daugela et al (2018)<sup>(96)</sup></b>      | Lithuania | 0.56      | ERC (sm)       | 30              | 14:20* | 22.7*                                      | n=30/n=30                  |
| <b>Unsal et al (2018)<sup>(94)</sup></b>        | Turkey    | 0.4       | ERC (sm)       | 50              | 17:33  | 23.96 (15-43)                              | n=50/n=50                  |
| <b>Afat et al (2018)<sup>(107)</sup></b>        | Turkey    | 1.03      | ERC (pa)       | 40              | 15:25  | GA 22.3; GB 22.7 (18-30)**                 | n=20/n=20                  |
| <b>Ritto et al (2019)<sup>(104)</sup></b>       | Brazil    | 0.967     | ERC (sm)       | 17              | 10:7   | 21.8 (16-29)                               | n=17/n=17                  |

\*O autor apresenta valores para os 34 pacientes, antes da exclusão de 4 devido a falta de seguimento.

\*\* GA, Grupo L-PRF; GB, Grupo controlo.

**Tabela IV** – Comparação das angulações dos molares incluídos, realização ou não de osteotomia, intervalo entre cirurgias nos casos de estudos *split-mouth* e medicação nos estudos incluídos. (NM – não mencionado; NA – não aplicável)

|                                                 | ANGULAÇÃO                             | OSTEOTOMIA | INTERVALO    | MEDICAÇÃO                                                                                                                                                                              |
|-------------------------------------------------|---------------------------------------|------------|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Gürbüz et al (2010)<sup>(105)</sup></b>      | Vertical                              | Não        | Mesma sessão | Amoxicilina-Ácido clavulânico 1g 2/dia durante 5 dias<br>Naproxeno 550mg 2/dia durante 5 dias<br>Colutório de Clorexidina 0.12% 2/dia durante 7 dias, a começar 24h depois da cirurgia |
| <b>Eshghpour et al (2014)<sup>(97)</sup></b>    | Variadas                              | Sim        | Mesma sessão | Amoxicilina 500mg 3/dia (não menciona duração)<br>Paracetamol 500mg 3/dia durante um máximo de 3 dias                                                                                  |
| <b>Baslari et al (2015)<sup>(106)</sup></b>     | Vertical ou ligeiramente mesioangular | Não        | Mesma sessão | Amoxicilina 1g 2/dia durante 5 dias<br>Naproxeno 550mg 3/dia durante 5 dias                                                                                                            |
| <b>Bilginaylar et al (2015)<sup>(101)</sup></b> | Vertical                              | Sim        | 21 dias      | Amoxicilina 500mg 3/dia durante 5 dias<br>Paracetamol 500mg (em caso de necessidade)<br>Colutório de Iodopovidona 7.5% 3/dia durante 7 dias                                            |
| <b>Kumar et al (2015)<sup>(98)</sup></b>        | Mesioangular, Horizontal              | Sim        | NA*          | Amoxicilina 500mg 3/dia durante 3 dias<br>Metronidazol 400mg 3/dia durante 3 dias<br>Aceclofenac + Paracetamol 2/dia durante 3 dias<br>Colutório de Clorexidina 3/dia durante 3 dias   |

|                                             |                                    |                   |                   |                                                                                                                                                                                                       |
|---------------------------------------------|------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Ozgul et al (2015)<sup>(102)</sup></b>   | Horizontal, Mesioangular, Vertical | Sim               | Mesma sessão      | Amoxicilina 1g 2/dia durante 7 dias<br>Paracetamol 500mg 3/dia durante 7 dias<br>Colutório de Clorexidina 3/dia durante 7 dias                                                                        |
| <b>Uyanik et al (2015)<sup>(100)</sup></b>  | Vertical                           | Sim               | 21 dias           | Amoxicilina 500mg 3/dia durante 5 dias<br>Paracetamol 500mg (em caso de necessidade)<br>Colutório de Iodopovidona 7.5% 3/dia durante 7 dias                                                           |
| <b>Kumar et al (2016)<sup>(99)</sup></b>    | NM                                 | Quando necessário | NM                | Antibióticos (não especifica)<br>Analgésicos (não especifica)                                                                                                                                         |
| <b>Al-Hamed et al (2016)<sup>(95)</sup></b> | NM                                 | Quando necessário | NA*               | Amoxicilina 500mg 4/dia durante 5 dias<br>Ibuprofeno 400mg 3/dia no dia da cirurgia e depois consoante a necessidade<br>Colutório de Clorexidina 2/dia durante 7 dias                                 |
| <b>Asutay et al (2017)<sup>(103)</sup></b>  | Mesioangular                       | Sim               | 21 dias           | Amoxicilina-Ácido clavulânico 1g 2/dia durante 7 dias<br>Paracetamol 500mg 2/dia durante 7 dias<br>Colutório de Clorexidina 0.2% 3/dia for 7 dias                                                     |
| <b>Daugela et al (2018)<sup>(96)</sup></b>  | NM                                 | Sim               | Mesma sessão      | Profilaxia antibiótica (Clindamicina 600mg) 1h antes e 1h depois da cirurgia<br>Prescrição pós-operatória: Lornoxicam 8mg caso necessário e Colutório de Clorexidina 0.12% 3/dia durante duas semanas |
| <b>Unsal et al (2018)<sup>(94)</sup></b>    | NM                                 | NM                | Pelo menos 7 dias | Paracetamol 500mg 3/dia durante 7 dias<br>Colutório de Clorexidina 0.2% 3/dia for 7 dias                                                                                                              |

|                                               |          |     |              |                                                                                                                                                        |
|-----------------------------------------------|----------|-----|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Afat et al<br/>(2018)<sup>(107)</sup></b>  | Vertical | NM  | NA*          | Amoxicilina 1g 2/dia durante 7 dias<br>Paracetamol 500mg 3/dia (em caso de necessidade)<br>Colutório de Clorexidina 3/dia durante 7 dias               |
| <b>Ritto et al<br/>(2019)<sup>(104)</sup></b> | NM       | Sim | Mesma sessão | Dexametasona 8mg 1h antes da cirurgia<br>Prescrição pós-operatória:<br>Ibuprofeno 400mg 4/dia durante 5 dias<br>Paracetamol 750mg 4/dia durante 5 dias |

\*Não aplicável porque são estudos “parallel group”.

**Tabela V** – Comparação das variáveis avaliadas, os métodos, o momento de registo de valores, e os resultados dos estudos incluídos. Um valor de  $p < 0.05$  considera-se um resultado estatisticamente significativo (NM – não mencionado, d – dia; s – semana; m – mês)

|                                                 | VARIÁVEIS                                   |    | MÉTODOS                                                                                                                                                        | MOMENTO DE REGISTO | RESULTADOS (valor de p)                            |
|-------------------------------------------------|---------------------------------------------|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|----------------------------------------------------|
| <b>Gürbüz et al (2010)<sup>(105)</sup></b>      | Regeneração óssea (atividade osteoblástica) |    | Cintigrafia                                                                                                                                                    | 4s                 | Estatisticamente não significativo ( $p > 0.05$ )  |
| <b>Eshghpour et al (2014)<sup>(97)</sup></b>    | Alveólite                                   |    | “Progressive and severe pain during the first postoperative week with foul taste, halitosis, regional lymphadenitis, or loss of lot in the extraction socket.” | 2d, 1s             | $p = 0.042$                                        |
| <b>Baslari et al (2015)<sup>(106)</sup></b>     | Regeneração óssea (atividade osteoblástica) |    | 1. Cintigrafia<br>2. Cálculo de <i>Mean gray values</i> com base nas ortopantomografias                                                                        | 1m, 3m             | Estatisticamente não significativos ( $p > 0.05$ ) |
|                                                 | Profundidade de sondagem                    | de | Medição de 6 pontos ao redor do 2º molar mandibular com sonda periodontal                                                                                      | 1m, 3m             | Estatisticamente não significativos ( $p > 0.05$ ) |
| <b>Bilginaylar et al (2015)<sup>(101)</sup></b> | Dor pós-operatória                          |    | Escala VAS                                                                                                                                                     | 1d, 2d, 3d, 1s     | Soma de valores $p = 0.001$                        |
|                                                 | Consumo de analgésicos                      | de |                                                                                                                                                                | 1d, 2d, 3d, 1s     | Soma de valores $p = 0.017$                        |
|                                                 | Trismo                                      |    | “Distance between mesial incisal corners of the upper and lower right incisors during maximum mouth opening”                                                   | 1d, 2d, 3d, 1s     | Estatisticamente não significativos ( $p > 0.05$ ) |
|                                                 | Edema                                       |    | Método de Gabka and Matsumara modificado                                                                                                                       | 1d, 2d, 3d, 1s     | Estatisticamente não significativos ( $p > 0.05$ ) |

|                                            |                                              |                                                                                                                  |                |                                                                                                       |
|--------------------------------------------|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Kumar et al (2015)<sup>(98)</sup></b>   | Dor pós-operatória                           | Escala VAS                                                                                                       | 1d             | p=0.017                                                                                               |
|                                            | Trismo                                       | “Inter-incisal distance”                                                                                         | 1d             | p=0.040                                                                                               |
|                                            | Edema                                        | Escala VAS                                                                                                       | 1d             | p=0.022                                                                                               |
|                                            | Profundidade de sondagem                     | Medição de 3 pontos na face distal do 2º molar mandibular com sonda periodontal                                  | 1m, 3m         | A diferença da profundidade de sondagem entre 1m e 3m é superior no grupo de estudo (L-PRF) – p<0.001 |
|                                            | Regeneração óssea (valor de densidade óssea) | Avaliação de radiografias periapicais usando a escala sugerida por Ogundipe et al.                               | 1m, 3m         | Valores superiores no grupo de estudo (L-PRF) mas estatisticamente insignificativos (p>0.05)          |
| <b>Ozgul et al (2015)<sup>(102)</sup></b>  | Dor pós-operatória                           | Escala VAS                                                                                                       | 1d, 3d, 1s     | Estatisticamente não significativos (p>0.05)                                                          |
|                                            | Edema                                        | Guia horizontal e vertical                                                                                       | 1d, 3d, 1s     | 1d – p=0.041; 3d – p=0.001; 1s – p>0.05                                                               |
| <b>Uyanik et al (2015)<sup>(100)</sup></b> | Dor pós-operatória                           | Escala VAS                                                                                                       | 1d, 2d, 3d, 1s | Soma de valores - P=0.001                                                                             |
|                                            | Consumo de analgésicos                       |                                                                                                                  | 1d, 2d, 3d, 1s | Soma de valores estatisticamente não significativa (p>0.05)                                           |
|                                            | Trismo                                       | “Distance between the mesial incisal corners of the upper and lower right incisors during maximum mouth opening” | 1d, 2d, 3d, 1s | 1d – p=0.011<br>2d, 3d, 1s – Estatisticamente não significativos (p>0.05)                             |
|                                            | Edema                                        | Método de Gabka and Matsumara modificado                                                                         | 1d, 2d, 3d, 1s | Estatisticamente não significativos (p>0.05)                                                          |
| <b>Kumar et al</b>                         | Dor pós-operatória                           | Escala numérica de dor                                                                                           | 1d, 3d, 1s, 4s | 1d, 3d, 1s – p=0.00                                                                                   |

|                                       |                                |                                                                                                                                                                                                                                                                       |                             |                                                                                                                                                         |
|---------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (2016) <sup>(99)</sup>                |                                |                                                                                                                                                                                                                                                                       |                             | 4s - Estatisticamente não significativo ( $p>0.05$ )                                                                                                    |
|                                       | Regeneração óssea              | <i>Fractal analysis</i>                                                                                                                                                                                                                                               | 2m, 4m, 6m                  | Os valores foram 0.03 superiores no grupo de estudo em todos os momentos de medição mas a diferença não foi estatisticamente significativa ( $p>0.05$ ) |
| Al-Hamed et al (2016) <sup>(95)</sup> | Dor pós-operatória             | Escala VAS                                                                                                                                                                                                                                                            | 2d, 3d, 4d, 5d, 6d, 1s      | 5d – $P=0.041$ ; 6d – $P=0.032$ ; 1s – $p=0.005$<br>Estatisticamente não significativos ( $p>0.05$ ) nas restantes medições                             |
|                                       | Consumo de analgésicos         |                                                                                                                                                                                                                                                                       | 2d, 3d, 4d, 5d, 6d, 1s      | 2d – $p=0.019$ ; 3d – $p=0.039$ ; 6d – $p=0.045$ ; 1s – $p=0.020$<br>Estatisticamente não significativos ( $p>0.05$ ) nas restantes medições.           |
|                                       | Alveolite                      | “Presence of continuous throbbing postoperative pain in and around the extraction socket that was not adequately relieved by analgesics. The pain was associated with partially or completely disintegrated blood clot or an empty socket with or without halitosis.” | NM (ao longo de uma semana) | $p=0.037$                                                                                                                                               |
|                                       | Cicatrização dos tecidos moles | Índice de cicatrização de Landry et al.                                                                                                                                                                                                                               | 1s                          | Valores do índice de cicatrização:<br>Grupo L-PRF: 3 Boa, 6 Muito boa, 16 Excelente<br>Grupo controlo: 2 Má, 3 Boa, 8 Muito boa, 12                     |

|                                                                             |                                |                                                                                                                                                                      |                                     |                                                                                                                                                       |
|-----------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Excelente                                                                   |                                |                                                                                                                                                                      |                                     |                                                                                                                                                       |
| Diferença entre os grupos é estatisticamente não significativa ( $p>0.05$ ) |                                |                                                                                                                                                                      |                                     |                                                                                                                                                       |
| <b>Asutay et al (2017)<sup>(103)</sup></b>                                  | Dor pós-operatória             | Escala VAS                                                                                                                                                           | 6h, 12h, 1d, 2d, 3d, 4d, 5d, 6d, 1s | Estatisticamente não significativos ( $p>0.05$ )                                                                                                      |
|                                                                             | Trismo                         | “Maximal distance of the inter-incisor opening with manual clipers”                                                                                                  | 2d, 1s                              | Estatisticamente não significativos ( $p>0.05$ )                                                                                                      |
|                                                                             | Edema                          | Comparação de imagens via 3dMD                                                                                                                                       | 2d, 1s                              | Estatisticamente não significativos ( $p>0.05$ )                                                                                                      |
|                                                                             | Alveólite                      | “Any persistent and progressive pain”                                                                                                                                | NM (ao longo de uma semana)         | Não especifica o valor de p. Apenas refere que esta complicação foi observada em 3 pacientes no grupo controlo e num paciente do grupo estudo (L-PRF) |
| <b>Daugela et al (2018)<sup>(96)</sup></b>                                  | Dor pós-operatória             | Escala VAS                                                                                                                                                           | 1d, 2d, 3d, 4d, 5d, 6d, 1s          | 1d - $p=0.001$ ; 2d - $p=0.004$ ; 3d - $p=0.001$ ; 4d - $p=0.001$ ; 5d - $p=0.001$ ; 6d - $p=0.001$ ; 1s - $p=0.001$                                  |
|                                                                             | Edema                          | Guia horizontal e vertical                                                                                                                                           | 1d, 3d, 1s                          | 1d - $p=0.035$ ; 3d - $p=0.023$<br>1s – Estatisticamente não significativo ( $p>0.05$ )                                                               |
|                                                                             | Cicatrização dos tecidos moles | Índice de cicatrização de Landry et al.                                                                                                                              | 1d, 3d, 1s, 2s                      | 1d – $p=0.001$ ; 3d – $p=0.001$ ; 1s – $p=0.002$ ; 2 – $p=0.023$ ;                                                                                    |
|                                                                             | Alveólite                      | “Postoperative continuous throbbing pain surrounding the alveolus that was not adequately relieved by analgesics and that increased in severity during a period of 1 | NM (ao longo de uma semana)         | $p=0.001$                                                                                                                                             |

to 3 days after tooth extraction. The pain was followed by partial or complete loss of the initial blood clot in the interior of the socket with or without halitosis.”

|                                           |                                |                                                                                                                                                                |                             |                                                                                                                                                           |
|-------------------------------------------|--------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Unsal et al (2018)<sup>(94)</sup></b>  | Dor pós-operatória             | Escala verbal de dor (“none”, “mild”, “moderate”, “severe”, “very severe”, “excruating”)                                                                       | 6h, 12h, 1d, 2d, 3d, 1s     | 1d – p=0.049; 1s – p=0.017<br>Estatisticamente não significativos (p>0.05) nos restantes momentos de medição                                              |
|                                           | Alveolite                      | “Patients experiencing “severe” level of pain for at least 4 postoperative days, with the occurrence of situations outside the normal healthy healing tissue.” | NM (ao longo de uma semana) | No geral, resultado estatisticamente não significativo (p>0.05)<br>Entre fumadores – 6/16 no grupo controlo e 0/16 no grupo do L-PRF tiveram OA (p=0.018) |
|                                           | Profundidade de sondagem       | Medição de 3 pontos na face distal do 2º molar mandibular com sonda periodontal                                                                                | 3m                          | Estatisticamente não significativo (p>0.05).                                                                                                              |
| <b>Afat et al (2018)<sup>(107)</sup></b>  | Cicatrização dos tecidos moles | Combination of Landry et al scale and Cervelli et al scale                                                                                                     | 1s, 2s, 3s                  | 1s, 2s, 3s – p=0.001                                                                                                                                      |
| <b>Ritto et al (2019)<sup>(104)</sup></b> | Dor pós-operatória             | Escala VAS                                                                                                                                                     | 1d, 3d, 7d                  | Estatisticamente não significativos (p>0.05)                                                                                                              |
|                                           | Cicatrização dos tecidos moles | Índice de cicatrização de Landry et al.                                                                                                                        | NM                          | Estatisticamente não significativos (p>0.05)                                                                                                              |
|                                           | Regeneração óssea              | Avaliação da densidade óssea via CBCT e um programa de processamento de imagem                                                                                 | 3m                          | p=0.007                                                                                                                                                   |

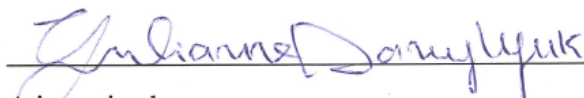
# **ANEXOS**

## **DECLARAÇÃO**

### **Monografia de Investigação/Relatório de Atividade Clínica**

Declaro que o presente trabalho, no âmbito da Monografia de Investigação/Relatório de Atividade Clínica, integrado no MIMD, da FMDUP, é da minha autoria e todas as fontes foram devidamente referenciadas.

23/05/2019

A handwritten signature in blue ink, reading "Julianna Damião", is written over a horizontal line.

A investigadora

## **PARECER**

**(Entrega do trabalho final de Monografia)**

Informo que o Trabalho de Monografia desenvolvido pela Estudante **Yulianna Danylyuk** com o título: **Eficácia das membranas de fibrina ricas em leucócitos e plaquetas na gestão de complicações locais após extração de terceiros molares mandibulares**, está de acordo com as regras estipuladas na FMDUP, foi por mim conferido e encontra-se em condições de ser apresentado em provas públicas.

23/05/2019

Assinado por: **JOÃO MANUEL LOPES ALVES**

**BRAGA**

Num. de Identificação Civil: B1089553616

Data: 2019.05.24 14:15:18 +0100



CARTÃO DE CIDADÃO

---

O Orientador

## BIBLIOGRAFIA

1. Carter K, Worthington S. Predictors of Third Molar Impaction: A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of dental research*. 2016;95(3):267-76.
2. Gloria JCR, Martins CC, Armond ACV, Galvao EL, Dos Santos CRR, Falci SGM. Third Molar and Their Relationship with Caries on the Distal Surface of Second Molar: A Meta-analysis. *Journal of maxillofacial and oral surgery*. 2018;17(2):129-41.
3. Vergara AD, Llinás HJ, Bustillo JM. Incidence of Lower Anterior Third Molars on Dental Crowding. A New Approach. *International journal of odontostomatology*. 2017;11:327-32.
4. Vigneswaran AT, Shilpa S. The incidence of cysts and tumors associated with impacted third molars. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*. 2015;7(Suppl 1):S251-4.
5. Fernandes MJ, Ogden GR, Pitts NB, Ogston SA, Ruta DA. Incidence of symptoms in previously symptom-free impacted lower third molars assessed in general dental practice. *British dental journal*. 2009;207(5):E10; discussion 218-9.
6. Sidlauskas A, Trakiniene G. Effect of the lower third molars on the lower dental arch crowding. *Stomatologija*. 2006;8(3):80-4.
7. Rakprasitkul S. Pathologic changes in the pericoronal tissues of unerupted third molars. *Quintessence international* (Berlin, Germany : 1985). 2001;32(8):633-8.
8. Santosh P. Impacted Mandibular Third Molars: Review of Literature and a Proposal of a Combined Clinical and Radiological Classification. *Annals of medical and health sciences research*. 2015;5(4):229-34.
9. Steed MB. The indications for third-molar extractions. *Journal of the American Dental Association* (1939). 2014;145(6):570-3.
10. Farina R, Trombelli L. Wound Healing of Extraction Sockets 2013. 195-228 p.
11. Leoni G, Neumann PA, Sumagin R, Denning TL, Nusrat A. Wound repair: role of immune–epithelial interactions. *Mucosal immunology*. 2015;8(5):959-68.
12. Etulain J. Platelets in wound healing and regenerative medicine. *Platelets*. 2018;29(6):556-68.
13. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-

related biologic features. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics. 2006;101(3):e45-50.

14. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics. 2006;101(3):e51-5.
15. Duarte-Rodrigues L, Miranda EFP, Souza TO, de Paiva HN, Falci SGM, Galvao EL. Third molar removal and its impact on quality of life: systematic review and meta-analysis. Quality of life research : an international journal of quality of life aspects of treatment, care and rehabilitation. 2018;27(10):2477-89.
16. Deliverska EG PM. Complications after extraction of impacted third molars- literature review. Journal of IMAB. 2016;22(3):1202-11.
17. Hansson S, Halldin A. Alveolar ridge resorption after tooth extraction: A consequence of a fundamental principle of bone physiology. Journal of dental biomechanics. 2012;3:1758736012456543-.
18. Marciani RD. Complications of third molar surgery and their management. Atlas of the oral and maxillofacial surgery clinics of North America. 2012;20(2):233-51.
19. Susarla SM, Blaeser BF, Magalnick D. Third molar surgery and associated complications. Oral and maxillofacial surgery clinics of North America. 2003;15(2):177-86.
20. McGrath C, Comfort MB, Lo ECM, Luo Y. Patient-centred outcome measures in oral surgery: validity and sensitivity. British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 2003;41(1):43-7.
21. Shah R, M GT, Thomas R, Mehta DS. An Update on the Protocols and Biologic Actions of Platelet Rich Fibrin in Dentistry. The European journal of prosthodontics and restorative dentistry. 2017;25(2):64-72.
22. Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). Trends in biotechnology. 2009;27(3):158-67.
23. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. Une opportunit?? en paro-implantologie: Le PRF2001. 55-62 p.
24. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological

concepts and evolution. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics. 2006;101(3):e37-44.

25. Al-Hamed FS, Tawfik MA, Abdelfadil E, Al-Saleh MAQ. Efficacy of Platelet-Rich Fibrin After Mandibular Third Molar Extraction: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 2017;75(6):1124-35.

26. He Y, Chen J, Huang Y, Pan Q, Nie M. Local Application of Platelet-Rich Fibrin During Lower Third Molar Extraction Improves Treatment Outcomes. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 2017;75(12):2497-506.

27. Canellas J, Ritto FG, Medeiros PJD. Evaluation of postoperative complications after mandibular third molar surgery with the use of platelet-rich fibrin: a systematic review and meta-analysis. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 2017;46(9):1138-46.

28. Singh A, Kohli M, Gupta N. Platelet rich fibrin: a novel approach for osseous regeneration. *Journal of maxillofacial and oral surgery*. 2012;11(4):430-4.

29. Ruga E, Gallesio C, Boffano P. Platelet-rich fibrin and piezoelectric surgery: a safe technique for the prevention of periodontal complications in third molar surgery. *The Journal of craniofacial surgery*. 2011;22(5):1951-5.

30. Hoaglin DR, Lines GK. Prevention of Localized Osteitis in Mandibular Third-Molar Sites Using Platelet-Rich Fibrin. *International Journal of Dentistry*. 2013;2013:4.

31. Varghese MP, Manuel S, Kumar LKS. Potential for Osseous Regeneration of Platelet-Rich Fibrin-A Comparative Study in Mandibular Third Molar Impaction Sockets. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 2017;75(7):1322-9.

32. Gülşen U, Şentürk MF. Effect of platelet rich fibrin on edema and pain following third molar surgery: a split mouth control study. *BMC oral health*. 2017;17(1):79-.

33. Jeyaraj PE, Chakranarayan A. Soft Tissue Healing and Bony Regeneration of Impacted Mandibular Third Molar Extraction Sockets, Following Postoperative Incorporation of Platelet-rich Fibrin. *Annals of maxillofacial surgery*. 2018;8(1):10-8.

34. Revathy NS, Kannan R, Karthik RS, Kumar MSS, Munshi MAI, Vijay R. Comparative study on alveolar bone healing in postextraction socket versus healing aided with autologous platelet-rich fibrin following surgical removal of bilateral

mandibular impacted third molar tooth: A radiographic evaluation. *National journal of maxillofacial surgery*. 2018;9(2):140-6.

35. Dar MM, Shah AA, Najar AL, Younis M, Kapoor M, Dar JI. Healing Potential of Platelet Rich Fibrin in Impacted Mandibular Third Molar Extraction Sockets. *Annals of maxillofacial surgery*. 2018;8(2):206-13.

36. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*. 2008;16(5):585-601.

37. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. *Clinics in Dermatology*. 2007;25(1):9-18.

38. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The Wound Healing Process: An Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *Journal of International Medical Research*. 2009;37(5):1528-42.

39. Martin P, Nunan R. Cellular and molecular mechanisms of repair in acute and chronic wound healing. *British Journal of Dermatology*. 2015;173(2):370-8.

40. Remedios A. Bone and Bone Healing. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*. 1999;29(5):1029-44.

41. Tsiridis E, Upadhyay N, Giannoudis P. Molecular aspects of fracture healing: Which are the important molecules? *Injury*. 2007;38(1, Supplement):S11-S25.

42. Dimitriou R, Tsiridis E, Giannoudis PV. Current concepts of molecular aspects of bone healing. *Injury*. 2005;36(12):1392-404.

43. Lin WL, McCulloch CA, Cho MI. Differentiation of periodontal ligament fibroblasts into osteoblasts during socket healing after tooth extraction in the rat. *The Anatomical record*. 1994;240(4):492-506.

44. Kuboki Y, Hashimoto F, Ishibashi K. Time-dependent changes of collagen crosslinks in the socket after tooth extraction in rabbits. *Journal of dental research*. 1988;67(6):944-8.

45. Hsieh YD, Devlin H, Roberts C. Early alveolar ridge osteogenesis following tooth extraction in the rat. *Archives of oral biology*. 1994;39(5):425-8.

46. Kanyama M, Kuboki T, Akiyama K, Nawachi K, Miyauchi FM, Yatani H, et al. Connective tissue growth factor expressed in rat alveolar bone regeneration sites after tooth extraction. *Archives of oral biology*. 2003;48(10):723-30.

47. Cardaropoli G, Araujo M, Lindhe J. Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. *Journal of clinical periodontology*. 2003;30(9):809-18.
48. Cardaropoli G, Araujo M, Hayacibara R, Sukekava F, Lindhe J. Healing of extraction sockets and surgically produced - augmented and non-augmented - defects in the alveolar ridge. An experimental study in the dog. *Journal of clinical periodontology*. 2005;32(5):435-40.
49. Sato H, Takeda Y. Proliferative Activity, Apoptosis, and Histogenesis in the Early Stages of Rat Tooth Extraction Wound Healing. *Cells Tissues Organs*. 2007;186(2):104-11.
50. Smith N. A comparative histological and radiographic study of extraction socket healing in the rat. *Australian Dental Journal*. 1974;19(4):250-4.
51. Amler MH, Johnson PL, Salman I. Histological and histochemical investigation of human alveolar socket healing in undisturbed extraction wounds. *Journal of the American Dental Association* (1939). 1960;61:32-44.
52. Amler MH. The time sequence of tissue regeneration in human extraction wounds. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*. 1969;27(3):309-18.
53. Amler MH. Disturbed healing of extraction wounds. *The Journal of oral implantology*. 1999;25(3):179-84.
54. Amler MH, Salman I, Bungener H. Reticular and collagen fiber characteristics in human bone healing. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1964;17(6):785-96.
55. Boyne PJ. Osseous repair of the postextraction alveolus in man. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*. 1966;21(6):805-13.
56. Evian CI, Rosenberg ES, Coslet JG, Corn H. The osteogenic activity of bone removed from healing extraction sockets in humans. *Journal of periodontology*. 1982;53(2):81-5.
57. Trombelli L, Farina R, Marzola A, Bozzi L, Liljenberg B, Lindhe J. Modeling and remodeling of human extraction sockets. *Journal of clinical periodontology*. 2008;35(7):630-9.
58. Ucuzian AA, Gassman AA, East AT, Greisler HP. Molecular mediators of angiogenesis. *Journal of burn care & research : official publication of the American Burn Association*. 2010;31(1):158-75.

59. Araujo MG, Silva CO, Misawa M, Sukekava F. Alveolar socket healing: what can we learn? *Periodontology* 2000. 2015;68(1):122-34.
60. Lindhe J, Cecchinato D, Bressan EA, Toia M, Araujo MG, Liljenberg B. The alveolar process of the edentulous maxilla in periodontitis and non-periodontitis subjects. *Clinical oral implants research*. 2012;23(1):5-11.
61. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. 1998;85(6):638-46.
62. Kawase T. Platelet-rich plasma and its derivatives as promising bioactive materials for regenerative medicine: basic principles and concepts underlying recent advances. *Odontology*. 2015;103(2):126-35.
63. Simonpieri A, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. The relevance of Choukroun's platelet-rich fibrin and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part II: implant surgery, prosthodontics, and survival. *Implant dentistry*. 2009;18(3):220-9.
64. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. 2006;101(3):e56-60.
65. Dohan Ehrenfest DM, de Peppo GM, Doglioli P, Sammartino G. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth factors (Chur, Switzerland)*. 2009;27(1):63-9.
66. Davis VL, Abukabda AB, Radio NM, Witt-Enderby PA, Clafshenkel WP, Cairone JV, et al. Platelet-rich preparations to improve healing. Part I: workable options for every size practice. *The Journal of oral implantology*. 2014;40(4):500-10.
67. Bonnefoy A, Daenens K, Feys HB, De Vos R, Vandervoort P, Vermeylen J, et al. Thrombospondin-1 controls vascular platelet recruitment and thrombus adherence in mice by protecting (sub)endothelial VWF from cleavage by ADAMTS13. *Blood*. 2006;107(3):955-64.
68. Yaprak E, Kasap M, Akpınar G, Islek EE, Sinanoglu A. Abundant proteins in platelet-rich fibrin and their potential contribution to wound healing: An explorative proteomics study and review of the literature. *Journal of dental sciences*. 2018;13(4):386-95.

69. Ratajczak J, Vangansewinkel T, Gervois P, Merckx G, Hilkens P, Quirynen M, et al. Angiogenic Properties of 'Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin'. *Scientific reports*. 2018;8(1):14632-.
70. Dohan Ehrenfest DM, Del Corso M, Diss A, Mouhyi J, Charrier JB. Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane. *Journal of periodontology*. 2010;81(4):546-55.
71. Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plastic and reconstructive surgery*. 1988;81(5):672-6.
72. Toffler M. Guided bone regeneration (GBR) using cortical bone pins in combination with leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Compendium of continuing education in dentistry (Jamesburg, NJ : 1995)*. 2014;35(3):192-8.
73. Dohan Ehrenfest DM, Doglioli P, de Peppo GM, Del Corso M, Charrier J-B. Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) stimulates in vitro proliferation and differentiation of human oral bone mesenchymal stem cell in a dose-dependent way. *Archives of oral biology*. 2010;55(3):185-94.
74. Wu CL, Lee SS, Tsai CH, Lu KH, Zhao JH, Chang YC. Platelet-rich fibrin increases cell attachment, proliferation and collagen-related protein expression of human osteoblasts. *Aust Dent J*. 2012;57(2):207-12.
75. Kim J, Ha Y, Kang NH. Effects of Growth Factors From Platelet-Rich Fibrin on the Bone Regeneration. *The Journal of craniofacial surgery*. 2017;28(4):860-5.
76. Khan SN, Bostrom MP, Lane JM. Bone growth factors. *The Orthopedic clinics of North America*. 2000;31(3):375-88.
77. Mazor Z, Horowitz RA, Del Corso M, Prasad HS, Rohrer MD, Dohan Ehrenfest DM. Sinus Floor Augmentation With Simultaneous Implant Placement Using Choukroun's Platelet-Rich Fibrin as the Sole Grafting Material: A Radiologic and Histologic Study at 6 Months. *Journal of periodontology*. 2009;80(12):2056-64.
78. Simonpieri A, Choukroun J, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. Simultaneous sinus-lift and implantation using microthreaded implants and leukocyte- and platelet-rich fibrin as sole grafting material: a six-year experience. *Implant dentistry*. 2011;20(1):2-12.
79. Tajima N, Ohba S, Sawase T, Asahina I. Evaluation of sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using platelet-rich fibrin as sole grafting material. *The International journal of oral & maxillofacial implants*. 2013;28(1):77-83.

80. Su CY, Kuo YP, Tseng YH, Su CH, Burnouf T. In vitro release of growth factors from platelet-rich fibrin (PRF): a proposal to optimize the clinical applications of PRF. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics. 2009;108(1):56-61.
81. Kobayashi E, Fluckiger L, Fujioka-Kobayashi M, Sawada K, Sculean A, Schaller B, et al. Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. Clinical oral investigations. 2016;20(9):2353-60.
82. Fabbro MD, Bortolin M, Taschieri S, Ceci C, Weinstein RL. Antimicrobial properties of platelet-rich preparations. A systematic review of the current pre-clinical evidence. Platelets. 2016;27(4):276-85.
83. Wu X, Ren J, Yuan Y, Luan J, Yao G, Li J. Antimicrobial properties of single-donor-derived, platelet-leukocyte fibrin for fistula occlusion: An in vitro study. Platelets. 2013;24(8):632-6.
84. Kour P, Pudakalkatti PS, Vas AM, Das S, Padmanabhan S. Comparative Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Platelet-rich Plasma, Platelet-rich Fibrin, and Injectable Platelet-rich Fibrin on the Standard Strains of Porphyromonas gingivalis and Aggregatibacter actinomycetemcomitans. Contemporary clinical dentistry. 2018;9(Suppl 2):S325-s30.
85. Karde PA, Sethi KS, Mahale SA, Khedkar SU, Patil AG, Joshi CP. Comparative evaluation of platelet count and antimicrobial efficacy of injectable platelet-rich fibrin with other platelet concentrates: An in vitro study. Journal of Indian Society of Periodontology. 2017;21(2):97-101.
86. Nanditha S, Chandrasekaran B, Muthusamy S, Muthu K. Apprising the diverse facets of Platelet rich fibrin in surgery through a systematic review. International journal of surgery (London, England). 2017;46:186-94.
87. Dohan Ehrenfest DM, Pinto NR, Pereda A, Jiménez P, Corso MD, Kang B-S, et al. The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors, and fibrin architecture of a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) clot and membrane. Platelets. 2018;29(2):171-84.
88. Miron RJ, Fujioka-Kobayashi M, Hernandez M, Kandalam U, Zhang Y, Ghanaati S, et al. Injectable platelet rich fibrin (i-PRF): opportunities in regenerative dentistry? Clinical oral investigations. 2017;21(8):2619-27.

89. Agrawal AA. Evolution, current status and advances in application of platelet concentrate in periodontics and implantology. *World Journal of Clinical Cases*. 2017;5(5):159-71.
90. Miron RJ, Pinto NR, Quirynen M, Ghanaati S. Standardization of relative centrifugal forces in studies related to platelet-rich fibrin. *Journal of periodontology*. 2019.
91. Pinto N, Temmerman A, Teughels W, Castro A, Cortellini S, Quirynen M. Consensus Guidelines on the Use of L-PRF from the 1st European Meeting on Enhanced Natural Healing in Dentistry 2016.
92. Miron RJ, Dham A, Dham U, Zhang Y, Pikos MA, Sculean A. The effect of age, gender, and time between blood draw and start of centrifugation on the size outcomes of platelet-rich fibrin (PRF) membranes. *Clinical oral investigations*. 2019;23(5):2179-85.
93. Ghanaati S, Booms P, Orłowska A, Kubesch A, Lorenz J, Rutkowski J, et al. Advanced Platelet-Rich Fibrin: A New Concept for Cell-Based Tissue Engineering by Means of Inflammatory Cells. *Journal of Oral Implantology*. 2014;40(6):679-89.
94. Unsal H, GN HE. Evaluation of the Effect of Platelet-Rich Fibrin on the Alveolar Osteitis Incidence and Periodontal Probing Depth after Extracting Partially Erupted Mandibular Third Molars Extraction. *Nigerian journal of clinical practice*. 2018;21(2):201-5.
95. Al-Hamed F, Abdel-Monem Tawfik M, Abdelfadil E. Clinical Effects of Platelet-rich Fibrin (PRF) following Surgical Extraction of Lower Third Molar 2016.
96. Daugela P, Grimuta V, Sakavicius D, Jonaitis J, Juodzbals G. Influence of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) on the outcomes of impacted mandibular third molar removal surgery: A split-mouth randomized clinical trial. *Quintessence international* (Berlin, Germany : 1985). 2018;49(5):377-88.
97. Eshghpour M, Dastmalchi P, Nekooei AH, Nejat A. Effect of Platelet-Rich Fibrin on Frequency of Alveolar Osteitis Following Mandibular Third Molar Surgery: A Double-Blinded Randomized Clinical Trial. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2014;72(8):1463-7.
98. Kumar N, Prasad K, Ramanujam L, K R, Dexith J, Chauhan A. Evaluation of treatment outcome after impacted mandibular third molar surgery with the use of autologous platelet-rich fibrin: a randomized controlled clinical study. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 2015;73(6):1042-9.

99. Kumar YR, Mohanty S, Verma M, Kaur RR, Bhatia P, Kumar VR, et al. Platelet-rich fibrin: the benefits. *The British journal of oral & maxillofacial surgery*. 2016;54(1):57-61.
100. Uyanik LO, Bilginaylar K, Etikan I. Effects of platelet-rich fibrin and piezosurgery on impacted mandibular third molar surgery outcomes. *Head & face medicine*. 2015;11:25.
101. Bilginaylar K, Uyanik LO. Evaluation of the effects of platelet-rich fibrin and piezosurgery on outcomes after removal of impacted mandibular third molars. *The British journal of oral & maxillofacial surgery*. 2016;54(6):629-33.
102. Ozgul O, Senses F, Er N, Tekin U, Tuz HH, Alkan A, et al. Efficacy of platelet rich fibrin in the reduction of the pain and swelling after impacted third molar surgery: randomized multicenter split-mouth clinical trial. *Head & face medicine*. 2015;11:37.
103. Asutay F, Yolcu U, Gecor O, Acar AH, Ozturk SA, Malkoc S. An evaluation of effects of platelet-rich-fibrin on postoperative morbidities after lower third molar surgery. *Nigerian journal of clinical practice*. 2017;20(12):1531-6.
104. Ritto FG, Pimentel T, Canellas JVS, Junger B, Cruz M, Medeiros PJ. Randomized double-blind clinical trial evaluation of bone healing after third molar surgery with the use of leukocyte- and platelet-rich fibrin. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 2019.
105. Gurbuzer B, Pikdoken L, Tunali M, Urhan M, Kucukodaci Z, Ercan F. Scintigraphic evaluation of osteoblastic activity in extraction sockets treated with platelet-rich fibrin. *J Oral Maxillofac Surg*. 2010;68(5):980-9.
106. Baslarli O, Tumer C, Ugur O, Vatankulu B. Evaluation of osteoblastic activity in extraction sockets treated with platelet-rich fibrin. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*. 2015;20(1):e111-6.
107. Afat IM, Akdoğan ET, Gönül O. Effects of leukocyte- and platelet-rich fibrin alone and combined with hyaluronic acid on early soft tissue healing after surgical extraction of impacted mandibular third molars: A prospective clinical study. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2019;47(2):280-6.
108. Kizildag A, Tasdemir U, Arabaci T, Ozmen O, Kizildag CA, Iyilikci B. Evaluation of New Bone Formation Using Autogenous Tooth Bone Graft Combined with Platelet-Rich Fibrin in Calvarial Defects. *The Journal of craniofacial surgery*. 2019.

109. You JS, Kim SG, Oh JS, Kim JS. Effects of Platelet-Derived Material (Platelet-Rich Fibrin) on Bone Regeneration. *Implant dentistry*. 2019.
110. Castro AB, Cortellini S, Temmerman A, Li X, Pinto N, Teughels W, et al. Characterization of the Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin Block: Release of Growth Factors, Cellular Content, and Structure. *The International journal of oral & maxillofacial implants*. 2019.
111. Tabrizi R, Pourdanesh F, Jafari S, Behnia P. Can platelet-rich fibrin accelerate neurosensory recovery following sagittal split osteotomy? A double-blind, split-mouth, randomized clinical trial. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 2018;47(8):1011-4.
112. Bayram B, Akdeniz SS, Diker N, Helvacioğlu F, Erdem SR. Effects of Platelet-Rich Fibrin Membrane on Sciatic Nerve Regeneration. *The Journal of craniofacial surgery*. 2018;29(3):e239-e43.
113. Cano-Durán JA, Peña-Cardelles J-F, Ortega-Concepción D, Paredes-Rodríguez VM, García-Riart M, López-Quiles J. The role of Leucocyte-rich and platelet-rich fibrin (L-PRF) in the treatment of the medication-related osteonecrosis of the jaws (MRONJ). *Journal of clinical and experimental dentistry*. 2017;9(8):e1051-e9.
114. Valente NA, Chatelain S, Alfonsi F, Mortellaro C, Barone A. Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw: The Use of Leukocyte-Platelet-Rich Fibrin as an Adjunct in the Treatment. *The Journal of craniofacial surgery*. 2019.
115. Fernando de Almeida Barros Mourao C, Calasans-Maia MD, Del Fabbro M, Le Drapper Vieira F, Coutinho de Mello Machado R, Capella R, et al. The use of Platelet-rich Fibrin in the management of medication-related osteonecrosis of the jaw: A case series. *Journal of stomatology, oral and maxillofacial surgery*. 2019.
116. Polak D, Clemer-Shamai N, Shapira L. Incorporating antibiotics into platelet-rich fibrin: A novel antibiotics slow-release biological device. *Journal of clinical periodontology*. 2019;46(2):241-7.